

№ 67 - 72 - 27/1
Від 03.04.17р.

ВІДЗИВ

на дисертаційну роботу **Мітіної Наталії Євгенівни** “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

Перспективним напрямком досліджень в хімії високомолекулярних сполук і супрамолекулярної хімії є розробка та створення нових полімерних матеріалів із заданими функціональними властивостями, які можуть бути використані в багатьох областях: нано- і біотехнології, фармації та наномедицини. Особливе місце серед асортименту нових промислово важливих функціональних пероксидовмісних матеріалів належить новому перспективному класу сполук, якими є поверхнево-активні полімери з бічними та кінцевими пероксидними фрагментами. Створення функціональних кополімерів гребенеподібної, розгалуженої та блочної будови з контрольованими характеристиками для застосування в медицині та біотехнології, як ефективних носіїв адресної доставки ліків та нуклеїнових кислот визначає **актуальність та практичне значення** дисертаційної роботи **Н.Є. Мітіної**. А метою даної роботи є встановлення закономірностей та розроблення експериментальних методів синтезу нових поліпероксидів блочної та розгалуженої будови, та на їх основі поверхнево-активних функціональних кополімерів і супрамолекулярних структур для отримання систем адресної доставки протипухлинних ліків і нуклеїнових кислот.

Не викликає сумніву **наукова новизна** даної роботи, яка полягає в розширенні та розвитку наукового напрямку в хімії високомолекулярних сполук та полімерних пероксидів:

- 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;
- запропоновано 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;
- розвинуто наукові знання про утворення супрамолекулярних структур різного ступеню впорядкування поверхнево-активними поліпероксидами розгалуженої та лінійної блочної

будови та полімерами на їх основі в розчині і встановлено вплив довжини, функціональності та заряду бічних ланцюгів та блоків кополімерів на конформацію, кооперативну взаємодію макромолекул та колоїдно-хімічні характеристики та морфологію супрамолекулярних структур; – 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 кіслотами і, як наслідок, ефективності доставки та дії препаратів.

Дисертацію побудовано за стандартною схемою: короткий Вступ, 6 розділів основного тексту, Висновки, Список цитованої літератури, який включає 550 літературних джерел та 6 додатків. Роботу викладено на 277 сторінках, містить 178 рисунків та 97 таблиць. Автореферат, 41 публікація автора і 3 патенти України відбивають основний зміст дисертації.

У **Вступі** стисло сформульовано актуальність теми, мету і задачі, наукову новизну і практичне значення роботи.

На основі критичного аналізу літературних джерел, що представлено у **розділі 1**, дисертант адекватно висвітлив сучасний стан проблеми та переконливо обґрунтував мету і методичний підхід до рішення поставлених задач.

Другий розділ містить опис методик синтезу поверхнево-активних макроініціаторів, ПЕГ-вмісних макроініціаторів з бічними пероксидними групами, гребенеподібних кополімерів, а також синтез водних систем лікарських препаратів. Наведено опис експериментальних методик сучасних методів дослідження високомолекулярних сполук (дилатометрія, елементний аналіз ІЧ-, УФ-, Раман-, ЯМР-спектроскопія, віскозиметрія, світлорозсіювання, гель-проникна хроматографія, рентгеноструктурний аналіз, малокутове рентгенівське розсіювання, динамічне світлорозсіювання, ТЕМ і СЕМ електронна мікроскопія). Слід особливо відзначити вдало підібрані методики, що можна вважати запорукою кількісного охарактеризування властивостей як синтезованих функціональних поверхнево-активних поліпероксидів блочної та розгалуженої будови, поверхнево-активних функціональних кополімерів, так і систем доставки протипухлинних препаратів, що досліджено на біологічну активність *in vitro* та *in vivo*.

У **Третньому розділі** розглянуто нові шляхи створення ПЕГ-вмісних поверхнево-активних гребенеподібних та розгалужених поліпероксидів,

Автором запропоновано синтез водорозчинних ПЕГ-вмісних гребенеподібних кополімерів, які містять бічні пероксидні та інші функціональні групи в основному ланцюзі. Синтез здійснювали взаємодією бічних епоксидних груп бінарних (полі(ВЕР-ко-ГМА)) та потрійних (полі(НВР-ко-ВЕР-ко-ГМА), полі(НІПАМ-ко-ВЕР-ко-ГМА)) кополімерів з

епоксидними та пероксидними реакційними фрагментами з мПЕГ. Скурпулезно проведенні дослідження дозволили автору зробити висновок, що швидкість взаємодії епоксидних груп поліпероксидів з мПЕГ та гранична величина конверсії епоксидних груп визначаються концентрацією, довжиною ланцюга мПЕГ та мікроструктурою епоксидовмісного кополімеру.

Проведені кінетичні дослідження термічного гомолізу пероксидних груп ПЕГ-вмісного поліпероксиду при різних температурах показали, що величини констант швидкості термічного розкладу зростають в ряду полі(ВЕР-ко-ГМА) < полі(НВР-ко-ВЕР-ко-ГМА) < полі(ВЕР-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ внаслідок утворення поліпероксидом з об'ємними бічними ПЕГ ланцюгами активованих проміжних комплексів та зменшення при цьому сегментних ступенів кінетичної свободи. Здатність синтезованих ПЕГ-вмісних поліпероксидів до вільнорадикального розкладу обумовлює їх використання як водо- та олієрозчинних макроініціаторів радикальної полімеризації для одержання розгалужених полімерів з бічними ПЕГ та поліелектролітними ланцюгами.

Автором продемонстровано експериментальні дані утворення розгалужених кополімерів в результаті прищеплювальної полімеризації, ініційованою ПЕГ-вмісними гребенеподібними поліпероксидами, які поєднують бічні ПЕГ та поліелектролітні ланцюги з контрольованими ступенем прищеплення, довжиною бічного ланцюга та мікроструктурою ланок АК або ДМАЕМ в них. Аналізуючи кінетичні особливості утворення гібридних полімерів, одержаних в результаті прищепленої полімеризації, ініційованої ПЕГ-вмісним поліпероксидом, здобувач дійшов висновку, що природа ініціатора визначає концентраційну залежність кінетичних параметрів полімеризації при досягненні певної критичної концентрації макроініціатора в розчині. Це обумовлено утворенням молекулами макроініціатора просторово обмежених зон та перебігом в них елементарних стадій полімеризації, в результаті цього зменшується ефективність ініціювання та константи швидкості полімеризації. Наведені експериментальні результати, одержані ІЧ-, ^1H - і ^{13}C ЯМР- спектрами, елементним та функціональним аналізами переконливо підтвердили структуру синтезованих здобувачем бінарних та потрійних кополімерів, а також їх похідних з бічними ПЕГ і поліелектролітними ланцюгами.

Показано, що поліелектроліти з бічними пероксидними групами можуть бути ефективним джерелом вільних радикалів та багатоцентровим макроініціатором радикальної полімеризації в полярних органічних середовищах, що обумовлює одержання гребенеподібних функціональних полімерів з контрольованими макро- і мікроструктурами.

Четвертий розділ присвячений розробленому автором синтезу блок-кополімерів з заданими функціональністю та довжинами полімерних блоків з кінцевими пероксидними фрагментами, який полягає в ініційованій окисно-відновними системами (ОВІС) низькотемпературній полімеризації в присутності пероксидовмісного передавача ланцюга монопероксину (МП).

Автором запропоновано для радикальної низькотемпературної полімеризації мономерів різної природи, використати як ініціатор ОВІС сіль Ce(IV) -гідроксилвмісні сполуки, в тому числі, полімери з кінцевими гідроксильними групами в присутності МП для синтезу гетеротелухелатних олігомерів і блок-кополімерів з кінцевим пероксидним фрагментом. Детально проведені кінетичні дослідження радикальної полімеризації на прикладі *N*-вінілпіролідону дозволили здобувачу встановити, що кінетичні закономірності полімеризації, а саме співвідношення швидкостей ініціювання, квадратичного та лінійного обривів, визначаються природою відновника та активністю радикалів, утворюваних ним, вмістом пероксидного передавача ланцюга, температурою та топохімією процесу полімеризації, які впливають на селективність, вихід та структурні і молекулярно-масові характеристики функціональних поліпероксидів.

Аналіз експериментальних кінетичних досліджень та аналіз функціонального складу одержаних продуктів полімеризації дозволив автору запропонувати механізм та кінетичну схему утворення поліпероксидів телухелатної та блочної будови, що полягає в перебігу елементарних стадій полімеризації, співвідношення швидкостей, яке визначає сумарну швидкість процесу, вихід та будову цільового пероксидовмісного полімеру.

Цікавим моментом роботи є отримання пероксидів із фрагментів відновника та монопероксину навіть за відсутності мономерів. На користь перебігу цих реакцій, свідчить утворення в результаті взаємодії радикалів $\text{Ф-ОН}\cdot$ з $\text{МП}\cdot$ низькомолекулярних та полімерних моно-, ди- та поліпероксидів, в досліджених окисно-відновних системах. Структуру таких пероксидів переконливо підтверджено ЯМР-, ІЧ- спектрами та аналізом на вміст пероксидних груп.

У **п'ятому розділі** обговорюються результати досліджень колоїдно-хімічних властивостей та структурних характеристик нових поверхнево-активних полімерів з бічними ПЕГ ланцюгами різної довжини, які здатні утворювати в розчині міцелоподібні структури (МПС) та можуть зв'язуватись з протипухлинними препаратами, ліпідосумісними речовинами та нуклеїновими кислотами.

Дослідження методами динамічного світлорозсіювання (ДСР), УФ-спектроскопії та люмінесцентного аналізу показало, що відбувається зв'язування полімерного носія на основі полі(ВЕР-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ з молекулами доксорубіцину (Докс) внаслідок утворення Докс водневих зв'язків з атомами етерного кисню ПЕГ ланцюгів. Встановлено, що утворення комплексів Докс з дослідженими гребнеподібними кополімерами різної будови відбувається за різними механізмами, про що свідчать різні, від негативного до позитивного, значення ξ -потенціалів, утворених ними в водних розчинах МПС.

Утворення поліплексів ДНК з гребнеподібними та блочними ПЕГ-вмісними кополімерами відбувається у певному співвідношенні компонентів і, відповідно, розмір комплексів залежить від співвідношення ДНК/полімерний носій. Показано, що від'ємний ξ -потенціал, властивий молекулі ДНК в результаті утворення сольового комплексу набуває позитивного поверхневого заряду, що є важливим для взаємодії із клітиною мембрани.

Останній **шостий розділ** можна вважати переконливою ілюстрацією різноманітного використання синтезованих нових полімерних пероксидів та функціональних полімерів на їх основі як носіїв фізіологічно активних субстанцій за рахунок їх біологічної активності. Наведені експериментальні результати переконливо показали, що синтезовані нові полімерні міцелярні носії на основі ПЕГ-вмісних полімерів розгалуженої та блочної будови та системи доставки протипухлинних препаратів є нетоксичними, забезпечують кардіопротекторний захист від дії доксорубіцину, пришвидшення доставки ліків в клітини, зниження терапевтичної дози в 2-10 разів та подолання набутої резистентності клітин до ліків.

Автором доведено, що синтезовані полікатіоніти гребнеподібної та блочної будови ефективніше здійснюють доставку ДНК у клітини-мішені порівняно з комерційними носіями, причому вищу ефективність у доставці ДНК проявляють розгалужені кополімери, що пов'язано з колоїдно-хімічними характеристиками поліплексів та їх здатністю взаємодіяти із поверхнею клітини. Тому найбільш визначним у даній роботі є те, що нетривіальний синтез поверхнево-активних пероксидовмісних олігомерів дозволив автору створити стабільні функціональні наноконізати, придатні для доставки ліків та нуклеїнових кислот у клітини-мішені різного походження. Перспективність використання нових функціональних поліпероксидів та кополімерів для потреб медицини, біології та біотехнології підтверджено дослідженнями, проведеними в Інституті біології клітини НАН України, Державній установі «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Інституті біології тварин НАН України, Інституті генної інженерії та біотехнології (Дослідницькому центрі TUBITAK Marmara, Гебзе Коджаелі,

Туреччина), Інституті ракових досліджень Медичного університету Відня (Відень, Австрія).

Разом з тим по дисертації можна зробити наступні зауваження:

1. В табл. 3.2. приведені структурні характеристики кополімерів на основі ВЕП та ГМА, з яких видно, що ММ визначена для складу ВЕП/ГМА 2/98 % мол. значно перевищує (у 3 рази) ММ для складу ВЕП/ГМА 6,9/93,1 % мол. при конверсії ~ 60 % . В роботі не наведено пояснення цьому факту.
2. Кінетика процесу утворення гребенеподібних ПЕГ-вмісних поліпероксидів в роботі описується приводячи зміну кількості епоксидних груп від часу реакції. Але при використанні етерату трифтористого бору є мало імовірним, що епоксидні фрагменти залишаться "нерозкритими". Чи були визначені залишкові епоксидні групи у гребенеподібному ПЕГ-вмісному макроініціаторі? (стор. 93, розділ 3).
3. При дослідженні розпаду пероксидних груп аніонактивного поліпероксиду був виявлений, так званий, індукований ефект (коли розпад пероксидної групи активується вже утвореними вільними радикалами). А при дослідженні розпаду пероксидних груп катіонактивного поліпероксиду цього ефекту не спостерігалось. В роботі це пояснюється мікроструктурою катіонактивного кополімеру. Які є підтвердження, що при аналогічній мікроструктурі аніонактивного поліпероксиду також не буде спостерігатися індукованого ефекту? (стор. 106, розділ 3).
4. В схемі, що ілюструє процес ініціювання полімеризації редокс-системою, за участю солей церію та гідроксилвмісних сполук, показано, що вільний радикал утворюється в результаті відриву гідрогену від вуглецю в α -положенні в гідроксилвмісній сполуці. Чим підтверджений саме такий механізм утворення вільного радикалу? (стор.122, розділ 4).
5. При утворенні комплексу доксорубіцину з полімерними носіями спостерігається зменшення розмірів міцелоподібних структур (МПС) у порівнянні із структурами цих кополімерів без доксорубіцину. Але із результатів рентгеноструктурного аналізу видно, що параметр α (який характеризує щільність ядра МПС) для комплексів доксорубіцину з гребенеподібним ПЕГ-вмісним макроініціатором збільшується (ядро ущільнюється), а для комплексів доксорубіцину з розгалуженим кополімером з прищепленими ланками кополімеру вінілпіролідону та акрилової кислоти параметр α зменшується (ядро розрихляється). Зменшення розміру та ущільнення ядра МПС автор пояснює утворенням системи водневих зв'язків, а при утворенні комплексу доксорубіцину та розгалуженого кополімеру з прищепленими аніонактивними ланцюгами водневі та сольові зв'язки не утворюються? З чим пов'язано зменшення параметра α ядра МПС

при утворенні комплексу доксорубіцину і розгалуженого кополімеру з прищепленими ланцюгами? (стор.194-195, розділ 5).

Вказані зауваження не є принциповими і тому не впливають на загальну позитивну оцінку роботи **Мігіної Наталії Євгенівни**. Висновки науково обгрунтовані. В авторефераті та опублікованих роботах відображені основні результати досліджень. Робота виконана на високому науковому та експериментальному рівні. Особливо хочеться відзначити, що матеріал дисертації і автореферату викладено доступно.

Вважаю, що робота за широтою поставлених задач і об'єму експериментальних досліджень, проведених на сучасному рівні, а також за своєю результативністю відповідає вимогам до докторських дисертацій «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, зокрема пунктам 9, 10, 12, а її автор, **Мігіна Наталія Євгенівна**, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук.

Доктор хімічних наук,
провідний науковий співробітник
Інституту хімії високомолекулярних сполук
НАН України

Т.Т. Алексеева

29 березня 2017 р.

Підпис д.х.н., пров.н.с. Алексеевої Т.Т. засвідчую

Вчений секретар ІХВС НАН України



В.Л. Будзінська