

## **ВІДГУК**

доктора хімічних наук, старшого дослідника, провідного наукового співробітника відділу кольору і будови органічних сполук Інституту органічної хімії НАН України

**КУЛІНІЧА Андрія Володимировича**

**на дисертацію СВОЯКОВА Ростислава Петровича**

**«СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ СКВАРАЇНОВИХ БАРВНИКІВ  
ТА СУПРАМОЛЕКУЛЯРНИХ СИСТЕМ НА ЇХНІЙ ОСНОВІ»,**

подану до захисту в спеціалізовану вчену раду  
в Державній науковій установі Науково-технологічний комплекс  
«Інститут монокристалів» Національної академії наук України  
на здобуття наукового ступеня доктора філософії  
в галузі знань 10 Природничі науки за спеціальністю 102 Хімія

### **Актуальність обраної теми дисертації.**

Не викликає сумніву важливість флуоресцентних методів аналізу та, відповідно, розробки нових флуоресцентних зондів і сенсорів для найрізноманітніших сфер застосування. Очевидно, що створення таких матеріалів потребує глибокого розуміння взаємозв'язків між структурою потенційного флуорофора та його фізико-хімічними й спектральними властивостями — незалежно від того, йдеться про добре відомі класи сполук (як-от кумарини, BODIPY, сквараїни, поліметини) чи навіть про нові, нетипові хромофорні системи.

Встановлення подібних взаємозв'язків можливе лише за умов синтезу та систематичного дослідження закономірних рядів сполук певного типу, що саме по собі становить актуальне наукове завдання. Об'єктами дослідження в цій дисертаційній роботі є серії спеціально розроблених і синтезованих гемісквараїнів і сквараїнів, а також відповідні ротаксани, у яких залишок квадратної кислоти оточений тетралактамним макроциклом, і, крім того, надмолекулярні комплекси — структури Холлідея.

Для кожного з цих класів об'єктів можна обґрунтовано говорити про окрему актуальність, зумовлену як їхньою хімічною природою, так і потенціалом до практичного використання. Спільним же знаменником усіх досліджень є здобуття нових знань і встановлення закономірностей, що становлять підґрунтя для подальшого раціонального дизайну хромофорів і їхніх агрегатів із заданими функціональними характеристиками.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота виконана у відділі люмінесцентних матеріалів та барвників ім. Б. М. Красовицького Інституту хімії функціональних матеріалів НТК ІМК НАН України й виконувалася в рамках:

- НДР програмно-цільової та конкурсної тематики НАН України «Дослідження супрамолекулярних комплексів типу «гість-хазяїн» для створення нових

функціональних матеріалів широкого спектру застосування» (2022 рік, № держреєстрації: 0122U002386);

- пошукової теми «Синтез та дослідження флуоресцентних сполук, чутливих до в'язкості, на основі сквараїнових барвників» (2021 рік, № держреєстрації 0121U108887);

- гранту НАН України науково-дослідним лабораторіям/групам молодих учених НАН України для проведення досліджень за пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки «Сучасні підходи до визначення токсичних елементів для контролю якості фармацевтичної продукції та стану екологічної безпеки» (2022-2023 роки, № держреєстрації 0122U002200);

- проекту НФДУ «Розробка нових матеріалів медико-біологічного та ветеринарного призначення на основі супрамолекулярних систем» (2024-2025 роки, № держреєстрації 0124U004748).

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

Мету й задачі дослідження сформульовано чітко, послідовно й обґрунтовано, матеріали розділів викладено відповідно до мети та поставлених задач. Для виконання задач та досягнення мети використано сучасні методи органічного синтезу, хроматографію (ТШХ, ВЕРХ), спектроскопію  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР, ІЧ спектроскопію, рентгеноструктурний аналіз, мас-спектрометрію, спектрофотометрію, флуоресцентну спектроскопію при стаціонарному та імпульсному збудженні, спектроскопію поглинання зі збудженого стану, спектроскопію кругового дихроїзму, чисельне моделювання оптичних властивостей методом Куна–Ренгера–Мея, а також проведено квантовохімічні розрахунки досліджуваних хромофорів методами функціонала електронної густини.

Дисертаційна робота Ростислава СВОЯКОВА викладена на 193 сторінках, із яких 168 сторінок основного тексту, та складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, літературного огляду (Розділ 1), трьох розділів, присвячених обговоренню власних результатів (Розділи 2-4), експериментальної частини (Розділ 5), висновків і переліку посилань (228 найменувань). Робота містить 19 схем, 10 таблиць, 58 рисунків, 6 формул.

У літературному огляді описано електронну будову та представлені основні підходи до синтезу симетричних і несиметричних сквараїнів/гемісквараїнів. Проаналізовано ілюстративні приклади використання сквараїнів як сенсорних молекул, чутливих до полярності середовища, в'язкості, рН, наявності катіонів металів. Показано, які структурні елементи необхідні для певних «сенсорних» ефектів. У підрозділі 1.4 представлено аналіз літератури щодо ротаксанів на основі сквараїнових систем, подано коротке знайомство з екситонною теорією взаємодії осциляторів М. Каша, а також з ефективним та зручним підходом до побудови й дослідження агрегатів барвників (і не тільки) — Х-подібними структурами ДНК Холлідея.

Розділ 2 присвячено синтетичній частині дисертаційного дослідження. У ньому детально описано синтез, очищення та підтвердження структури досліджених у

наступних розділах барвників, у тому числі й супрамолекулярних сквараїн-ротаксанів та сквараїнів, ковалентно зв'язаних із нуклеотидами для введення їх у ДНК структури Холлідея.

У Розділі 3 описано спектральні й сенсорні властивості синтезованих барвників. Досліджено сольватохромію та сольватофлуорохромію гемісквараїнів, у тому числі вплив добавок протоногенних розчинників, в'язкості середовища, рН. Наведено результати дослідження взаємодії сквараїнів із БСА. Представлено вивчення впливу іонів ртуті(II), а також катіонів інших металів, на спектральні властивості спеціально розроблених сірковмісних барвників.

У розділі 4 обговорюються спектрально-флуоресцентні властивості сквараїн-ротаксанових барвників у мономерному стані та у формі агрегатів. На основі аналізу великого набору експериментальних даних та числового моделювання оптичних властивостей супрамолекулярних систем зроблено обґрунтовані висновки про будову останніх, зокрема й у структурах Холлідея.

Експериментальна частина, представлена в Розділі 5, містить детальний опис синтетичних, фізико-хімічних та аналітичних експериментальних процедур, а також достатні для однозначного підтвердження структури фізико-хімічні дані досліджуваних сполук.

Висновки дисертаційного дослідження є достатньо обґрунтованими, відповідають поставленим завданням та відображені в анотації дисертації.

### **Достовірність і наукова новизна одержаних результатів.**

Достовірність результатів роботи визначається залученням великого набору фізико-хімічних методів (хроматографія,  $^1\text{H}$  і  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопія, мас-спектрометрія, рентгеноструктурні дослідження) для виділення та встановлення будови синтезованих сполук, а також системним використанням фізико-хімічних (електронна спектроскопія, флуоресцентна спектроскопія при стаціонарному та імпульсному збудженні, спектроскопія нестационарного поглинання) і квантовохімічних методів для вивчення їхньої електронної будови та спектральних властивостей. Окремо слід згадати дослідження асоціації синтезованих барвників у структурах Холлідея та детальний математичний аналіз отриманих результатів із залученням як електронних спектрів поглинання, та і спектрів кругового дихроїзму, який дав змогу надійно схарактеризувати взаємне 3D-розташування хромофорів у димерах.

Наукова новизна роботи полягає в дизайні й цілеспрямованому синтезі нових гемісквараїнових та сквараїнових флуорофорів та систематичному дослідженні їхніх спектрально-флуоресцентних властивостей, залежності їх від параметрів середовища (мікрооточення), зокрема й впливу іонів металів та білкових молекул, а також агрегації (самоасоціації). Особливо слід відзначити синтез різноманітних сквараїн-ротаксанів, простеження впливу тетралактамного макроциклу на фотоніку сквараїнових хромофорів та їхню здатність до утворення агрегатів. Важливим результатом є ковалентне зв'язування синтезованих сквараїн-ротаксанів із нуклеотидами, які надалі були введені в олігонуклеотиди, із яких формувалися структури Холлідея. При цьому

простежено утворення нетипових для сквараїнів агрегатів зі скошеним розміщенням хромофорів та, відповідно, двома екситонними смугами в спектрі поглинання.

### **Повнота викладу основних результатів дисертації в опублікованих працях.**

Основні результати дисертаційної роботи викладено в 3 наукових статтях в авторитетних фахових журналах [1 англomовне видання з України (Q4) та два іноземних (Q1 і Q2)], 1 патенті США, а також численних тезах доповідей на українських та міжнародних наукових конференціях.

Ознак академічного плагіату в публікаціях дисертанта та в самій дисертації мною не виявлено.

### **Оцінка змісту дисертації.**

Загалом дисертантом виконано велику за обсягом і вагому в теоретичному та практичному аспектах роботу, в якій отримано цікаві, нетривіальні результати. Особливо варто відзначити систематичне й багатопланове дослідження взаємозв'язків між структурою та властивостями гемісквараїнових хромофорів, які й досі залишаються значно менш вивченими, ніж класичні сквараїни. Окрім сольватохромії, вивчено їхню чутливість до в'язкості, кислотності, присутності іонів металів та БСА. Розроблено й синтезовано гемісквараїни, спектральні та флуоресцентні властивості яких змінюються за наявності іонів ртуті(II).

Отримано низку гемісквараїн-ротаксанів з різними амінозалишками, що дало змогу встановити залежність їхньої стабільності (здатності до дисоціації) від структури гемісквараїнової компоненти та, як з'ясувалося, від розчинника. При цьому важливими є й негативні результати: показано, що зі збільшенням об'єму аміногрупи утворення відповідних ротаксанів може взагалі не відбуватися.

Дослідження зміни спектрально-флуоресцентних властивостей сквараїнів при інкапсуляції хромофора в тетралактамний макроцикл є також надзвичайно актуальним і цікавим, хоча інтерпретація відповідних ефектів подекуди лишається неповною. Родзинкою роботи стало дослідження агрегації синтезованих сквараїн-ротаксанів у «матриці» структур Холлідея.

Виконання такої багатопланової роботи потребувало не лише значних навичок у галузі органічного синтезу та фізико-хімічних методів аналізу, але й правильного вибору методологічних підходів, широких і глибоких знань у галузі електронної та флуоресцентної спектроскопії, а також дуже великого обсягу експериментальних досліджень — зокрема, при вивченні чутливості синтезованих сполук до параметрів мікрооточення та впливу катіонів металів на їхні спектрально-флуоресцентні властивості.

Отримані результати є не лише важливими з теоретичної точки зору, а й мають прикладне значення, зважаючи на широке застосування флуоресцентних методів аналізу в сучасній науці, передусім в екологічних і біомедичних дослідженнях.

Анотація відповідає змісту й основним положенням дисертації та не містить інформації, відсутньої в самій роботі. Висновки дисертації є загалом обґрунтованими.

## Дискусійні положення та зауваження щодо змісту дисертації.

Загалом високо оцінюючи дисертаційну роботу Ростислава СВОЯКОВА, маю відзначити окремі недоліки та дискусійні моменти:

1. Текст дисертаційної роботи ґрунтується переважно на англійських публікаціях дисертанта, що загалом є зрозумілим і прийнятним. Водночас його, після автоматичного перекладу з англійської, недостатньо ретельно вчитано та виправлено. Це виявляється зокрема в нетиповому для української мови переважанні пасивного дієслівного стану, калькованих термінах, а також у низці повторюваних граматичних помилок (неправильні закінчення -а/-у іменників чоловічого роду в родовому відмінку однини, вживання подекуди займенника «їх» замість «їхній»). В окремих випадках сенс написаного стає зрозумілим лише після зворотного «перекладу в голові» на англійську. Показовим прикладом є назва підрозділу 5.3.4: «Корельований у часі підрахунок одиночних фотонів і спектроскопія перехідного поглинання» [коректний варіант перекладу (один із можливих): «Часово-корельований підрахунок одиничних фотонів і спектроскопія поглинання у збудженому стані»]. Інші приклади: «спектри асоційованих видів»; «гексиленовий» (стор. 76) замість «гексаметиленовий». Або ж автор перекладає «Boise State University» (де виконувалася частина досліджень) як «Університет Бойса». Іноді використані терміни не відповідають сенсу написаного, як от: «електронодефіцитного центрального циклобутенолатного фрагменту» (стор. 36) — цей фрагмент є електроноакцепторним, але не електронодефіцитним; навпаки, електронна густина на ньому підвищена. Вади перекладу не заважають зрозуміти суть, однак негативно впливають на наукову якість тексту та ускладнюють його сприйняття.

2. У тексті дисертації трапляються вислови, покликані створити враження новизни чи важливості або ж скоротити опис, однак позбавлені чіткого змісту. Такі конструкції прийнятні в грантових заявках чи науково-дослідних пропозиціях, де привабливість подачі відіграє важливу роль. Проте в академічному тексті таких формулювань слід уникати на користь точності та зрозумілості. Приклади:

- «керовані екситонні структури» — не зовсім зрозуміло, що саме мається на увазі під «керованістю»: кероване формування, динаміка, енергія переходу?
- «здатність до контрольованої агрегації» — очевидно, що мається на увазі можливість регулювати агрегацію шляхом зміни умов експерименту (концентрації, рН, полярності середовища, тощо), однак вживання слова «здатність» у цьому контексті є некоректним;
- «унікальні спектральні характеристики [скварайнів]» — вони все ж далеко не унікальні [якщо автор вважає інакше, він повинен наводити конкретні приклади, а не загальну фразу];
- «зміну електронного середовища хромофору» (стор. 135) — припускаю, що малюється на увазі щось на зразок «ротаксанове кільце з фторовмісними ароматичними угрупованнями обумовлює зростання локальної поляризованості середовища навколо хромофора, що пояснює описані спектральні ефекти»;
- сюди ж слід віднести вживання неконкретних описових слів та тавтологічних конструкцій: «надзвичайно малі кількості речовин», «надзвичайно

перспективні», «досить актуальний», «виразні оптичні властивості», «усе різноманіття», «процес формування», «стеричний об'єм», тощо.

3. Як у майже кожній дисертації, тут є «необов'язкові» технічні вади. Наприклад у «Списку публікацій здобувача» для першої публікації наведені внески кожного з авторів, а для наступних — як і рекомендовано — тільки особистий внесок дисертанта. Для публікації (2) до назви статті на початку додана назва журналу *Dyes and Pigments*. Є помилки у окремих хімічних структурах (1.12, 1.18, 1.23). У «Переліку умовних позначень, символів, скорочень» подаються загальноживані скорочення, яким там не місце (ДМФА, ДНК, ЯМР), та навіть хімічні формули ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ), але відсутні окремі менш вживані, неочевидні аббревіатури (наприклад SSQ).

4. Є певні недоліки в поданні експериментальних даних, які, імовірно, є результатом недостатньої уваги до оформлення чи автоматизованої обробки даних. Вони не впливають суттєво на достовірність основних наукових висновків. Приклади:

- наведені похибки визначення квантових виходів флуоресценції подекуди менші за  $\pm 1\%$  від визначеної величини (наприклад див. табл. 3.2), що значно менше за типову похибку методу, яка — і це згадується в експериментальній частині — складає не менше як  $\pm 5\%$ ;
- значні розбіжності (до 1.3 м.ч.) між хімічними зсувами відповідних сигналів у спектрах  $^{13}\text{C}\{\text{H}\}$  ЯМР та DEPT135 одних і тих самих сполук (наприклад **PhMe**, стор. 140-141);
- (стор. 142) сполука **2.8**, зважаючи на опис умов синтезу, була виділена як калієва сіль, проте в роботі вона наведена як вільна сульфокислота.

5. (стор. 35-36) «На основі даних елементного аналізу, ІЧ- та УФ-спектроскопії Трейбс і Якоб дійшли висновку, що синтезований барвник має цвітеріонну структуру, подібну до бетаїну, яка стабілізується за рахунок делокалізації заряду.» — Це речення добре ілюструє, чому важливо вдумливо перечитувати написане. Хоча побіжно воно може здатися цілком «прохідним», та все ж містить цілу низку методологічних і концептуальних вад. Пропоную дисертантові проаналізувати його та виокремити принаймні основні з них.

6. (стор. 44) Автор зазначає, що «флуоресцентні зонди можуть застосовуватися для визначення міцності водневих зв'язків [у біологічних об'єктах]» (також і для виявлення таких зв'язків). Це формулювання викликає запитання. Мені не відомі підходи, які дають змогу за допомогою флуоресцентних зондів безпосередньо визначати міцність окремих водневих зв'язків у біомолекулах чи розчиннику. Здебільшого такі зонди використовуються для оцінки протонодонорних або протоноакцепторних властивостей середовища, і навіть для цього часто потрібен набір зондів із різною чутливістю. Відповідно, хотілося б отримати більш детальне пояснення, що конкретно мав на увазі автор: які саме характеристики водневих зв'язків визначаються, у яких системах, яким типом зондів та на основі яких залежностей. Наведені на стор. 45 приклади не дають відповіді на це питання.

7. (стор. 65) «Зв'язки С–С в оксоциклобутенолатному фрагменті дуже схожі [близької довжини?] ..., що вказує на мезоіонну природу молекулярної структури

цього барвника. Довжини зв'язків C2–C5 і C5–C6 свідчать про більший внесок нейтральної форми в структуру молекули **PhH**.»

- По-перше, відповідно до номенклатури IUPAC, *мезоіонними* називають похідні 5- та 6-членних гетероциклів, які містять електронно-нейтральний, але формально заряджений контур із делокалізованим позитивним і негативним зарядом, з «олатним» атомом як замісником у самому гетероциклі. Тут же мова йде про 4-членний карбоцикл, тобто ця структура не відповідає критеріям мезоіонності.

- По-друге, сам автор справедливо зазначає (в Розділі 1), що за електронною будовою 1,3-скварати є бетаїнами, тобто представлення їх у формі «нейтральної» [без розділення зарядів] структури Льюїса є неможливим. Відповідно, твердження про «більший внесок нейтральної форми» викликає подив.

8. У роботі наведено детальний аналіз можливої таутомерії сполуки **MeH** у розчині, з переконливою — як на мене, навіть надміру детальною — аргументацією, що базується на аналізі даних ЯМР <sup>1</sup>H, перш за все спін–спінової взаємодії протона амідної NH-групи з протонами сусідньої метильної групи. Водночас, для сполуки **PhH** автор обмежується загальною фразою: «Барвник **PhH** також знаходиться у NH-формі згідно з даними <sup>1</sup>H ЯМР спектру.» (стор. 67). Хоча для **PhH** відсутні аналогічно інформативні маркери в рутинному спектрі ЯМР <sup>1</sup>H. Відповідно, для встановлення локалізації таутомерного протона необхідними є додаткові 2D-експерименти (наприклад HMBC, ROESY/NOESY).

9. (стор. 78) Висновок про проходження реакцій синтезу гемісквараїнів «без утворення побічних продуктів» є надмірно категоричним і суперечить хімічній реальності та власним експериментальним даним автора. Наведені виходи на кожній зі стадій далекі від 100%, а загальний вихід (за три стадії) барвника **PhPh** складає всього 35%. Доцільно формулювати такі твердження обережніше, з урахуванням можливості утворення домішок, які не перешкоджають ефективному виділенню цільових продуктів.

10. (стор. 79 і далі, підрозділ «Вплив різних розчинників...»). При дослідженні сольватохромії дисертантом використано обмежене коло розчинників — толуол, хлороформ, протоногенні спирти і (також протоногенне) буферне водне середовище. Для повнішої картини слід було б залучити апротонні полярні розчинники (наприклад ДМСО, ацетонітрил), що дозволило б ліпше відокремити ефекти загальної полярності від специфічної сольватації. Для сполук **MeH** та **PhH** цікавим був би вплив менш полярних розчинників різної протоноакцепторності (ТГФ, піридин). Наразі інтерпретація впливу середовища видається неповною. Наприклад, автор пише про «утворення водневих зв'язків з розчинником», але ж для **MeH** та **PhH** можливим є утворення водневих зв'язків, де вони виступають як донором, так і акцептором протона. І ці ефекти, на жаль, не диференційовані.

11. (стор. 98) Зростання яскравості згаданих барвників при взаємодії з БСА не є підставою для екстраполювання результату на інші пептиди. БСА — модельний,

поліфункціональний транспортний білок, здатний взаємодіяти з широким спектром лігандів. Наявність флуоресцентного відгуку при взаємодії з БСА не гарантує ефекту з іншими білками (особливо структурними або ферментативними) та не дає підстав говорити про «виявлення протеїнів» у загальному сенсі.

Вказані зауваження є уточнюючими, технічними, або мають характер побажань. Вони не зачіпають суті роботи, і не применшують її цінність.

### **Загальний висновок та оцінка дисертації.**

Дисертаційна робота СВОЯКОВА Ростислава Петровича «Синтез та дослідження сквараїнових барвників та супрамолекулярних систем на їхній основі» є завершеним науковим дослідженням, що робить важливий внесок у розвиток хімії, супрамолекулярної хімії та спектроскопії важливого типу флуорофорів — несиметричних сквараїнів та гемісквараїнів. Актуальність обраної теми, обґрунтованість наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації, достовірність та наукова новизна одержаних результатів, повнота їхнього викладу в опублікованих працях свідчать про наукову самостійність автора та високий рівень його підготовленості.

Одержані автором результати забезпечують вирішення актуального наукового завдання в галузі знань 10 Природничі науки.

Дисертаційна робота СВОЯКОВА Ростислава Петровича на тему «Синтез та дослідження сквараїнових барвників та супрамолекулярних систем на їхній основі» відповідає спеціальності 102 Хімія та вимогам «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у вищих навчальних закладах (наукових установах)», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року №261 (зі змінами і доповненнями від 03 квітня 2019 року №283), пунктам 6-9 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою КМУ від 12 січня 2022 р. № 44 (зі змінами), а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 Хімія.

### **Рецензент:**

доктор хімічних наук, старший дослідник,  
провідний науковий співробітник  
відділу кольору і будови органічних сполук  
Інституту органічної хімії НАН України, м. Київ

Андрій КУЛІНІЧ