

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.037.01

Созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН),

по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 5.06.2024 г. № 13

о присуждении **Деминой Полине Андреевне** ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Конструкции на основе полимер-модифицированных наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией для применения в биомедицине» по специальности 1.5.6. – «Биотехнология» принята к защите 3 апреля 2024 года (протокол заседания №9) диссертационным советом 24.1.037.01, созданным на базе ГНЦ ИБХ РАН (адрес: 117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10), и действующим на основании Приказов Минобрнауки России №75/нк от 15.02.2013 г. и №561 от 03.06.2021 г.

Соискатель Демина Полина Андреевна, 12 июля 1995 года рождения, в 2019 году окончила магистратуру Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «МИРЭА - Российский технологический университет» по направлению 04.04.01 «Химия», профиль: аналитическая, неорганическая и физическая химия. В 2022 году окончила аспирантуру ГНЦ ИБХ РАН по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки, профиль: 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии). В настоящий момент работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории полимеров для биологии отдела биоматериалов и бионанотехнологий ГНЦ ИБХ РАН.

Диссертационная работа выполнена в лаборатории полимеров для биологии отдела биоматериалов и бионанотехнологий ГНЦ ИБХ РАН.

Научный руководитель – доктор химических наук Генералова Алла Николаевна, главный научный сотрудник лаборатории полимеров для биологии отдела биоматериалов и бионанотехнологий ГНЦ ИБХ РАН.

Официальные оппоненты:

**Еремин Сергей Александрович**, доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры химической энзимологии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» и **Орлов Алексей Владимирович**, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Биофотоника» Центра естественно-научных

исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук» (ИОФ РАН), дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» (ФГБОУ ВО РХТУ им. Д.И. Менделеева), Москва, в своем *положительном* отзыве, подписанном заведующим кафедрой биоматериалов ФГБОУ ВО РХТУ им. Д.И. Менделеева, доктором химических наук Межуевым Ярославом Олеговичем и утвержденном и.о. ректора ФГБОУ ВО РХТУ им. Д. И. Менделеева, доктором технических наук, профессором Воротынцевым Ильёй Владимировичем, указала, что диссертационная работа Деминой Полины Андреевны «Конструкции на основе полимер-модифицированных наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией для применения в биомедицине» соответствует всем критериям (в том числе п.9), установленным «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 г. №1539; 26.09.2022 г. №1690; 26.01.2023 г. №101), а сам диссертант заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология.

Соискатель имеет 19 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 10 работ общим объемом 15 печатных листов в рецензируемых научных изданиях из списка, рекомендованного Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций (входят в базы Scopus, Web of Science и РИНЦ). В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные работы по теме, в которые Демина П.А. внесла основной либо существенный вклад, включают:

1. **Demina P.**, Arkharova N., Asharchuk I., Khaydukov K., Karimov D., Rocheva V., Nechaev A., Grigoriev Y., Generalova A., Khaydukov E. Polymerization Assisted by Upconversion Nanoparticles under NIR Light // *Molecules*. – 2019. – Т. 24. – № 13. – С. 2476.
2. Sochilina A. V, Savelyev A. G., **Demina P. A.**, Sizova S. V, Zubov V.P., Khaydukov E. V, Generalova A.N. Quantitative detection of double bonds in hyaluronic acid derivative via permanganate ions reduction // *Measurement Science and Technology*. – 2019. – Т. 30. – №7. – С. 075102.
3. **Demina P. A.**, Sholina N. V., Akasov R. A., Khochenkov D. N., Arkharova N. A., Nechaev A. V., Khaydukov E. V., Generalova A. N. A versatile platform for bioimaging based on colomonic acid-decorated upconversion nanoparticles // *Biomaterials science*. – 2020. – Т. 8. – № 16. – С. 4570-4580.
4. Каримов Д. Н., **Демина П. А.**, Кошелев А. В., Рочева В. В., Соковиков А. В., Генералова А. Н., Зубов В. П., Хайдуков Е. В., Ковальчук М. В., Панченко В. Я. Апконвертирующие кристаллические наноматериалы: синтез, фотолюминесцентные

- свойства и применение // Российские нанотехнологии. – 2020. – Т. 15. – № 6. – С. 699-724.
5. **Демина П. А.**, Шолина Н. В., Акасов Р. А., Хоченков Д. А., Нечаев А. В., Балалаева И. В., Хайдуков Е. В., Генералова А. Н., Деев С. М. Нанокристаллы с антистоксовой флуоресценцией, модифицированные полисиаловой кислотой, для визуализации солидных опухолей in vivo // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2021. – Т. 497. – С. 61.
  6. **Демина П. А.**, Хайдуков К. В., Рочева В. В., Акасов Р. А., Генералова А. Н., Хайдуков Е. В. Технология инфракрасной фотополимеризации // Фотоника. – 2022. – Т. 16. – № 8. – С. 600.
  7. Генералова А. Н., Акасов Р. А., **Демина П. А.**, Хайдуков К. В., Кузьева В. И., Соловьева Д. О., Мочалов К. Е., Семчишен В. А., Хайдуков Е. В. Миграция энергии в апконвертирующих нанокристаллах // Вестник РФФИ. – 2023. – Т. 117. – № 1. – С. 41-56.
  8. **Demina P. A.**, Khaydukov K. V., Sochilina A. V., Rocheva V. V., Ivanov A. V., Akasov R. A., Lin Q., Generalova A. N., Khaydukov E. V. Role of energy transfer in a nanoinitiator complex for upconversion-driven polymerization // Materials Today Advances. – 2023. – Т. 19. – С. 100388.
  9. **Demina P. A.**, Khaydukov K. V., Babayeva G., Varaksa P. O., Atanova A. V., Stepanov M. E., Nikolaeva M. E., Krylov I. V., Evstratova I. I., Pokrovsky V. S., Zhigarkov V. S., Akasov R. A., Egorova T. V., Khaydukov E. V., Generalova A. N. Upconversion Nanoparticles Intercalated in Large Polymer Micelles for Tumor Imaging and Chemo/Photothermal Therapy // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Т. 24. – № 13. – С. 10574.
  10. Генералова А. Н., **Демина П. А.**, Акасов Р. А., Хайдуков Е. В. Фотополимеризация в 3D-печати тканеинженерных конструкций для регенеративной медицины // Успехи химии. – 2023. – Т. 92. – № 2. – С. RCR5068.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

Отзыв официального оппонента д.х.н. **Еремина Сергея Александровича**. Отзыв положительный, содержит следующие замечания и вопросы:

1) В работе ставилась задача создания мультифункциональных конструкций на основе наночастиц, но не рассматривались углеродные наночастицы, так называемые углеродные квантовые точки, как наименее токсичные из носителей для иммобилизации и транспортировки лекарств.

2) Диссертация содержит много специфических терминов и сокращений, причем когда-то на русском (КДИ), а когда-то на английском (EDC). Встречаются опечатки (как правило), неудачные выражения – «однократным облучением светом с длиной волны 975 нм» или «перитуморальное введение», которое более правильно называть «околоопухолевое введение». Например, неудачное сокращение АН для наночастиц с антистоксовой флуоресценцией не ассоциируется с наночастицами (НЧ).

Отзыв официального оппонента к.ф.-м.н. **Орлова Алексея Владимировича**. Отзыв *положительный*, содержит следующие замечания и вопросы:

1) Некоторые подписи к рисункам выполнены мелким шрифтом (например, 3.5б, 3.12б, 3.13б), что затрудняет восприятие информации.

2) В работе описаны исследования разработанных конструкций *in vivo*. Проводились ли исследования формирования белковой короны на поверхности конструкций, и как функционализация поверхности наночастиц влияет на формирование белкового слоя на поверхности при их циркуляции в кровотоке?

3) Работа содержит некоторое количество опечаток и англицизмов, что может затруднять прочтение.

Отзыв **ведущей организации**. Отзыв **положительный**, содержит следующие вопросы и замечания:

1) Черно-белые рисунки, например. рис. 3.23, затрудняют восприятие информации. Необходимо введение дополнительных поясняющих элементов.

2) Текст диссертации содержит опечатки и некоторые стилистические ошибки, повторы.

3) В работе продемонстрирована гидрофилизация поверхности наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией полиэтиленимином. Чем определяется выбор молекулярной массы и использование разветвленного полимера?

4) В части «Материалы и методы» представлена информация об удалении не связавшегося с поверхностью наночастиц полимера методом центрифугирования. Необходимо указывать режим работы центрифуги в g, а не в об/мин. Это даст возможность воспроизвести результаты с использованием центрифуг других производителей.

5) В части «Материалы и методы» не указан компонент, используемый в работе для получения покрытия из полиэтиленгликоля, хотя он представлен в «Результатах и их обсуждении». Чем обоснован выбор производного полиэтиленгликоля и его молекулярной массы?

Отзыв на автореферат Лупоносова Юрия Николаевича - д.х.н., заведующего лабораторией полимерных солнечных батарей ФГБУН Института синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН. Отзыв **положительный**, не содержит замечаний.

Отзыв на автореферат Черкасова Владимира Рюриковича - к.х.н., старшего научного сотрудника, зам. зав. лабораторией нанобиотехнологий Московского физико-технического института (национального исследовательского университета). Отзыв **положительный**, не содержит замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными достижениями в области биотехнологии и бионанотехнологии, близких к тематике работы, что подтверждается наличием у них значительного количества публикаций в данной сфере исследований в ведущих российских и международных научных журналах и изданиях. Тематика работ официального оппонента д.х.н. **Еремина**

**Сергея Александровича** связана с флуоресцентными методами исследования, биосенсорами. Официальный оппонент **Орлов Алексей Владимирович** занимается разработкой наночастиц для определения малых молекул в биоаналитических исследованиях. Коллектив ведущей организации известен своими работами в области химической технологии и биоматериалов. Высокая квалификация, большой опыт исследовательской и экспертной работы оппонентов и представителей ведущей организации позволяет им объективно оценить степень научной новизны результатов диссертационной работы, а также ее теоретическую и практическую значимость.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработаны подходы к получению конструкций на основе единой платформы - наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией для решения задач биомедицины: визуализации, терапии и тканевой инженерии. Впервые получены биосовместимые наноконструкции при участии коллоидной кислоты для визуализации, способные длительно циркулировать в кровотоке и эффективно накапливаться в патологически измененных тканях. Разработаны многофункциональные конструкции на основе агрегатов полимерных мицелл, содержащие наночастицы с антистоксовой фотолюминесценцией и доксорубин, модифицированные термочувствительным полимером, поли-N-винилкапролактамом, и декорированные наночастицами серебра, для визуализации и терапии солидной опухоли под действием внешнего светового стимула. Продемонстрирована фотополимеризация диакрилата полиэтиленгликоля как у поверхности наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией, так и в объеме фотоотверждаемой композиции. Разработана фотоиницирующая система на основе наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией, растворимого или нерастворимого в воде фотоинициатора и диакрилата полиэтиленгликоля для фотоиндуцируемой реакции сшивки винилсодержащих гиалуроновой кислоты и желатина под действием ближнего ИК-излучения.

**Теоретическая значимость** исследования заключается в том, что на основании результатов работы сформулированы условия поверхностной модификации наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией для визуализации, формирования многокомпонентных конструкций для сочетанной терапии, а также требования к системе наночастица/фотоинициатор, необходимые для управления процессом получения полимерных конструкций требуемой архитектуры в реакции фотополимеризации под действием света ближнего ИК диапазона спектра. Это расширяет знания в области создания конструкций на основе неорганических наночастиц и полимеров для решения целого спектра задач биомедицины с использованием единого класса наночастиц – наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией.

**Значение** полученных соискателем результатов исследования для практики, состоит в том, что разработанные наноконструкции на основе наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией и коломиновой кислоты являются универсальным инструментом для визуализации области воспаления и солидной опухоли, оценки эффективности накопления наночастиц в кровеносной системе, что может быть использовано в качестве маркера, определяющего течение заболевания. Конструкции на основе агрегатов полимерных мицелл и наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией, сочетающие диагностическую, химио- и фототермическую функции могут быть рассмотрены в качестве противоопухолевого нанопрепарата, активируемого светом ближнего инфракрасного диапазона спектра. Разработанная система фотоиницирования на основе наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией, растворимого или нерастворимого в воде фотоинициатора и диакрилата полиэтиленгликоля значительно увеличивает количество доступных комбинаций фотоинициаторов и мономеров, фотоотверждаемых под действием света ближнего инфракрасного диапазона спектра. Фотоотверждение с использованием возбуждающего излучения, попадающего в «окно прозрачности» биологической ткани, не вызывает фотоповреждение живых клеток и позволяет формировать полимерные конструкции в условиях *in situ*.

**Достоверность результатов** исследований сомнений не вызывает. Исследования проводились на современном оборудовании при использовании как простых и общедоступных, так и высокотехнологичных научных методов и подходов, Технологическая база работы соответствует основным концепциям, принятым в современной науке, полученные результаты продемонстрировали воспроизводимость и не противоречат литературным данным. Материалы, представленные в работе, опубликованы в российских и зарубежных рецензируемых научных журналах.

**Личный вклад** соискателя состоит в активном участии в постановке задач и планировании работы, в разработке конструкций на основе наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией и биосовместимых полимеров для визуализации, терапии и тканевой инженерии с использованием современных физико-химических методов, а также обработке, анализе и оформлении полученных результатов. Большая часть экспериментального материала работы получена лично автором за исключением клеточных и гистологических исследований, выполненных совместно с коллегами из НИЦ "Курчатовский институт" и ФГБУ "НМИЦ Онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России. Автор представлял результаты работы на всероссийских и международных конференциях и принимал участие в подготовке и написании публикаций.

Диссертационный совет 24.1.037.01 заключил, что диссертационная работа Деминой Полины Андреевны является законченной научно-квалифицированной работой,

которая демонстрирует создание новых конструкций на основе полимер-модифицированных наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией, которая вносит значительный вклад в развитие биотехнологии.

Работа написана автором самостоятельно, содержит новые и актуальные научные результаты и по своему содержанию соответствует специальности 1.5.6. – Биотехнология. Таким образом, диссертационная работа Деминой Полины Андреевны «Конструкции на основе полимер-модифицированных наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией для применения в биомедицине», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология, соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 г. №1539; 26.09.2022 г. №1690; 26.01.2023 г. №101.

В ходе защиты диссертации соискателю Деминой П.А. были заданы следующие вопросы:

1) Можно ли этот полимер замешивать с клетками, вводить в полость и фотополимеризовать? Свет такой длины волны относительно безопасен, а радикальная полимеризация, насколько это безопасно?

2) Можете ли вы контролировать направленность полимерных структур? Например, при повреждении спинного мозга есть актуальная задача создания матриц, которые будут направлены вдоль ствола, чтобы обеспечивать прорастание аксонов. Есть такая возможность?

3) Насколько иницирующее излучение может быть сфокусировано в объеме?

4) От чего зависит размер наночастиц? Вы как-то пытались изменять эти размеры? Как размер наночастиц влияет на их свойства?

5) «Ахилесова пята» всех адресных доставок, начиная с первых иммунотоксинов, токсинов на основе, в том числе наночастиц, в том, что рецепторы есть не только на патологических клетках, но и на нормальных. В вашем случае происходят ли какое-то взаимодействие с нормальными клетками?

6) Коломиновая кислота сейчас доступна?

Соискатель Демина П.А. ответила на задаваемые в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию:

1) Система фотоиницирования разрабатывалась для проведения фотополимеризации в живом организме. Предполагается, что фотокомпозиция действительно может содержать клетки, она нетоксична, может вводиться подкожно или в область поражения. После чего задается геометрия объекта, который нужно получить, и

проводится фотоотверждение под действием излучения ближнего инфракрасного диапазона спектра, которое не повреждает биоткань. Что касается радикалов, радикальной фотополимеризации, концентрация радикалов как правило очень низкая (около 1%), что может повреждать клетки лишь отчасти. Экспериментально это не проверяли, это следующий этап исследования. На данном этапе мы используем биосовместимые полимеры, для которых и разрабатывали иницирующую систему и нам было важно показать как происходит иницирование процесса под действием ближнего инфракрасного излучения. Образующиеся радикалы будут иницировать реакцию фотополимеризации, а концентрация свободных радикалов, не задействованных в реакции, будет минимальна.

2) Процесс основан на том, что формируется воксель (лазерная перетяжка), который мы можем перемещать в двумерной плоскости (геометрия задается программно), проводя фотополимеризацию, перемещать столик по оси z (по высоте) и печатать трехмерные объекты, т.е. получать полимерные конструкции, скаффолды, с заданной геометрией, которая необходима.

3) Пространственное разрешение полимерных структур зависит от того, какую систему фотоиницирования мы используем – с растворимым или нерастворимым в воде фотоинициатором. Например, на слайде представлены получаемые полимерные структуры, с размером элемента около 50 мкм. Что соизмеримо с размером клетки.

4) Размер наночастиц определяется условиями и временем синтеза. Мы можем получать наночастицы в широком диапазоне от 20 до 400 нм в зависимости от задачи. Но необходимо учитывать, что размер наночастицы определяет ее люминесцентные свойства. Размер наночастиц менее 20 нм приведет к тому, что квантовый выход фотолюминесценции будет низкий. Если говорить о использовании таких наночастиц для визуализации, есть некий оптимум, как правило 50-150 нм, однако, важно учитывать поверхностную модификацию, которая определяет их поведение в организме при системном введении.

5) Зная эту проблему, мы отошли от адресной доставки и использовали пассивный механизм доставки наночастиц, который связан со структурой патологически измененной ткани. Например, в солидной опухоли нарушена сосудистая система, отсутствует лимфодренаж. Наночастицы циркулируя в кровотоке, как бы «выпадают» из дефектных сосудов и аккумулируются в области поражения. Поэтому стояла задача пролонгировать их циркуляцию, чтобы они накапливались за счет пассивного механизма доставки, не активного.

6) Да, коммерчески доступна.

На заседании 5 июня 2024 г. диссертационный совет постановил: за решение научной задачи по разработке конструкций на основе полимер-модифицированных наночастиц с антистоксовой фотолюминесценцией для визуализации, терапии и тканевой инженерии, имеющей важное значение для исследований в области биотехнологии, присудить Деминой Полине Андреевне ученую степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 7 докторов наук (по научной специальности рассматриваемой диссертации 1.5.6. – Биотехнология), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 22, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель  
диссертационного совета

академик РАН Мирошников А.И.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников В.А.

5.06.2024 г.

