

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.116.01 (Д 002.085.01) НА
БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРНЫХ
МАТЕРИАЛОВ ИМ. Н.С. ЕНИКОЛОПОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА ХИМИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от «19» июня 2025 г. № 8

О присуждении Пучкову Александру Анатольевичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Звездообразные биоразлагаемые полимеры на основе лактида для адресной доставки лекарств» по специальности 1.4.7 – «Высокомолекулярные соединения» принята к защите 17 апреля 2025 года, протокол № 5, диссертационным советом 24.1.116.01 (Д 002.085.01) на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова Российской академии наук (ИСПМ РАН), 117393 г., Москва, ул. Профсоюзная, 70, (приказ Минобрнауки №75/нк от 15 февраля 2013 года).

Соискатель Пучков Александр Анатольевич, 1996 года рождения, в 2017 г. окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский технологический университет», г. Москва, с квалификацией «бакалавр», в 2019 г. окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет», г. Москва, с квалификацией «магистр». С 2019 г. по 2023 г. проходил обучение в аспирантуре ИСПМ РАН. Кандидатский минимум был сдан в 2020-2022 годах. В настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в Курчатовском комплексе НБИКС-пт, Отделе нанобиоматериалов и структур, Лаборатории полимерных материалов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт».

Диссертационная работа выполнена в Лаборатории функциональных полимерных структур и лаборатории полимерных и композиционных

материалов биомедицинского назначения (отдел биополимеров) ИСПМ РАН, была рекомендована к защите на заседании Ученого совета ИСПМ РАН 04 марта 2025 г., протокол № 7.

Научный руководитель – **Седуш Никита Геннадьевич**, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией полимерных и композиционных материалов биомедицинского назначения ФГБУН ИСПМ РАН, г. Москва.

Официальные оппоненты:

Карлов Сергей Сергеевич, доктор химических наук, профессор РАН, профессор кафедры органической химии химического факультета ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва.

Межуев Ярослав Олегович, доктор химических наук, доцент, заведующий кафедрой биоматериалов ФГБОУ ВО РХТУ им. Д.И. Менделеева, г. Москва.

Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация:

Ведущая организация Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий» (Сколтех), в своем положительном отзыве, составленном к.ф.-м.н., профессором Лаборатории биоматериалов Центра нейробиологии и нейрореабилитации имени Владимира Зельмана Сухоруковым Глебом Борисовичем и утвержденном ректором Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», д.т.н., профессором, академиком РАН Кулешовым Александром Петровичем, отмечает актуальный характер диссертационного исследования Пучкова А.А., посвященного синтезу звездообразных биоразлагаемых полилактидов с различной функциональностью концевых групп, в том числе модифицированных полиэтиленгликолем, изучению влияния строения и состава синтезированных полимеров на их физико-химические свойства, кинетику деградации и параметры получаемых на их основе

наночастиц. Понимание механизмов высвобождения лекарственных веществ из полимерных наночастиц путем изменения свойств полимеров, а также управление кинетикой высвобождения лекарственных веществ путем регулирования свойств полимерной матрицы носителя остается весьма актуальной, но сложной задачей.

Научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы не вызывают сомнений, поскольку соискателем получен ряд **новых** результатов, имеющих как фундаментальное, так и прикладное значение.

Научная новизна диссертационной работы Пучкова А.А. заключается в том, что было проведено систематическое исследование кинетики полимеризации L- и D,L-лактида в расплаве в присутствии мультифункциональных со-инициаторов триметилпропана, пентаэритрита, дипентаэритрита. Впервые методом гель-проникающей хроматографии для звездообразных полилактидов были определены поправочные коэффициенты для пересчета молекулярной массы, рассчитанной по полистирольным стандартам, в абсолютные значения. Впервые определены профили гидролитической деградации при температуре 37 °C 3-х и 6-ти лучевых поли-L-лактидов (PLLA) с различной степенью кристалличности и поли-D,L-лактидов (PDLLA) с концевыми гидроксильными и карбоксильными группами. Анализ самоорганизации звездообразных блок-сополимеров PLLA-MPEG показал, что метод нанопреципитации позволяет получать узкодисперсные наночастицы со средним размером 16 нм на основе полимеров со степенью полимеризации поли-L-лактидного блока 10. Впервые была получена серия наночастиц на основе звездообразных блок-сополимеров поли-L-лактид-блок-полиэтиленгликоль (PLLA-MPEG), содержащих противораковые комплексы Pt(IV) и Pt(II) (оксалиплатин), с высоким показателем эффективности загрузки. Продемонстрирована возможность одновременной солубилизации наночастицами комбинации оксалиплатина и 5-фторурацила. Разработана новая наносомальная форма оксалиплатина, обладающая более низким уровнем общей токсичности и повышенной терапевтической эффективностью в лечении карциномы толстой кишки.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы Пучкова А.А. заключается в том, что были установлены кинетические закономерности полимеризации лактида в присутствии мультифункциональных спиртов, определены эффективные константы скорости этих реакций. Продемонстрирована возможность органокатализируемого синтеза 3-х лучевого PLA с высокой степенью конверсии мономера и функциональных групп со-инициатора. Исследовано влияние строения, молекулярной массы, степени кристалличности и природы концевых групп на скорость гидролитической деградации звездообразных PLA, что позволит создавать материалы медицинского назначения с контролируемым сроком биоразложения.

Показано, что на основе звездообразных блок-сополимеров PLLA-MPEG могут быть получены биосовместимые наночастицы, способные солубилизировать как гидрофильные, так и гидрофобные противораковые препараты. Эффективность действия разработанной наносомальной формы оксалиплатина была доказана в эксперименте *in vivo*, что делает ее перспективным кандидатом для доставки лекарственных соединений в организме.

Структура диссертационной работы и ее содержание. Диссертационная работа Пучкова А.А. написана по традиционному плану и состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 199 страницах печатного текста, содержит 84 рисунка, 14 таблиц. Список литературы содержит 197 ссылок.

Во введении излагается актуальность и научная новизна диссертационной работы, формулируются цели и основные задачи, обосновывается ее теоретическая и практическая значимость. Кратко изложены методы исследования, перечислены положения, выносимые на защиту, и личный вклад автора. Приводится информация об апробации результатов, объеме и структуре работы.

В первой главе (литературный обзор) отражены современные подходы к

синтезу и исследованию звездообразных сложных полиэфиров, в частности гомо- и сополимеров PLA. Обоснована актуальность и перспективность их использования для решения задач тканевой инженерии и наномедицины. Анализ показал, что для дальнейшего развития данных направлений необходимо изучить кинетику полимеризации лактида в присутствии мультифункциональных со-инициаторов с целью получения звездообразных PLA с контролируемым строением и составом, а также определить основные закономерности их гидролитической деградации. Кроме того, изучение влияния параметров амфифильных звездообразных блок-сополимеров PLA-MPEG на размер и морфологию наночастиц остается актуальным на сегодняшний день с точки зрения разработки биосовместимых наносомальных систем доставки противораковых препаратов.

Стоит отметить, что литературный обзор достаточно подробный и хорошо сбалансированный, написан на высоком научном уровне и включает в себя 197 ссылок на работы как отечественных, так и зарубежных исследователей, причем почти четверть ссылок относится к работам, опубликованным после 2019 года, что свидетельствует об актуальности тематики диссертационного исследования. Автору удалось достаточно полно отразить состояние научной области и четко обозначить круг актуальных вопросов.

В экспериментальной части (вторая глава) описаны все химические вещества и растворители, методики синтеза звездообразных PLA с различными концевыми группами (-ОН и -COOH), в том числе их амфифильные блок-сополимеры PLA-MPEG, методики получения водных суспензий наночастиц и наносомальных форм противораковых препаратов на их основе. Описаны методы исследования, используемые в ходе выполнения диссертационной работы, и соответствующие условия измерений, а также методики экспериментов *in vitro* и *in vivo*.

В третьей главе («Результаты и их обсуждение») представлены собственные результаты Пучкова А.А. К ключевым результатам, полученным в ходе исследования, относятся следующие положения, в которых было установлено, что:

1. Кинетика полимеризации лактида в присутствии мультифункциональных со-инициаторов триметилпропана, пентаэритрита, дипентаэритрита и катализатора 2-этилгексаноата олова подчиняется уравнению реакции первого порядка по мономеру, при этом скорость реакции ключевым образом может зависеть от структуры используемого многоатомного спирта.

2. Гидролитическая деградация 3-х и 6-ти лучевых поли-L и поли-D,L-лактидов протекает в соответствии с комбинированным механизмом, в котором преобладает объемный характер разложения, а изменение степени кристалличности, молекулярной массы и природы концевых групп позволяет регулировать срок деградации материалов от полутора месяцев до двух лет.

3. Звездообразные блок-сополимеры поли-L-лактид-блок-полиэтиленгликоль с коротким гидрофобным блоком способны в водной среде образовывать устойчивые наночастицы и солубилизировать препараты из группы координационных соединений платины без значимого изменения размеров наночастиц. Солубилизация сопровождается сохранением уровня цитотоксичности и увеличением коллоидной растворимости лекарственного вещества (ЛВ) в физиологической среде.

4. Внедрение оксалиплатина в полимерные наночастицы оказывает влияние на биораспределение ЛВ в организме мышей, что позволяет снизить общий уровень токсичности цитостатика и усилить его ингибирующее действие по отношению к пролиферации злокачественных клеток.

Выводы работы достаточно обширны и содержат информацию об основных достижениях диссертационного исследования.

Достоверность результатов диссертации не вызывает сомнений и подтверждается использованием современных экспериментальных методов исследования, физико-химическими методами анализа, апробацией результатов на конференциях и публикациях в высокорейтинговых научных журналах. Основные результаты диссертации изложены в шести статьях, опубликованных в рецензируемых научных журналах, входящих в Перечень ВАК и индексируемых в базах данных РИНЦ, «Scopus» и «Web of Science».

Автореферат и опубликованные научные труды полностью отражают содержание диссертации.

Полученные в диссертационной работе результаты могут быть полезны для специалистов, работающих в области химии высокомолекулярных соединений: Химический факультет ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» - Институт высокомолекулярных соединений (Филиал НИЦ "Курчатовский институт" - ПИЯФ - ИВС), ФГБУН Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН (ИСПМ РАН), ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН (ИНЭОС РАН), ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» и др.

По содержанию и оформлению диссертации имеются некоторые замечания, связанные с оптимизацией представления экспериментальных данных по синтезу звездноподобных полимеров, а именно:

1. Для подтверждения модификации PEG янтарным ангидридом автор приводит данные ЯМР, однако отсутствуют результаты ГПХ, исключающие деструкцию полимерной цепи при 135 °С.
2. Для корректного сопоставления данных в разделе 3.1.1 на графиках молекулярно-массового распределения полилактидов по оси абсцисс следовало бы указать значения молекулярной массы в дальтонах, как это представлено в остальной части работы.
3. На кинетических кривых и линейных анаморфозах не приведены погрешности экспериментальных точек.

Кроме того, при прочтении диссертации возникли следующие вопросы и рекомендации:

1. Насколько корректным является исследование молекулярно-массового распределения полилактидов имеющих звездообразную архитектуру с

помощью ГПХ с применением полистирольных стандартов?

2. В литературном обзоре целесообразнее было бы большее внимание уделить вопросу взаимодействия полимерных наночастиц с компонентами крови, а также возможным механизмам проникновения и деградации наночастиц в клетках.

Сделанные замечания не снижают ценности и значимости диссертационного исследования и носят, скорее, рекомендательный характер. Они не влияют на высокую оценку диссертационной работы. Результаты, полученные в диссертации, достоверны и подтверждены современными физико-химическими исследованиями. Они имеют фундаментальное значение для химии высокомолекулярных соединений.

Диссертационная работа Пучкова Александра Анатольевича представляет собой законченное научно-квалификационное исследование, выполненное на высоком научном уровне с использованием современных теоретических научных представлений и физико-химических методов исследования. По тематике исследования и по своему содержанию диссертационная работа Пучкова А.А. соответствует пунктам 2, 3, 4 и 9 паспорта научной специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

Заключение.

Таким образом, диссертационная работа Пучкова Александра Анатольевича «Звездообразные биоразлагаемые полимеры на основе лактида для адресной доставки лекарств» по своей актуальности, научно-практической значимости и содержанию, полностью отвечает требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» (в актуальной редакции), а её автор – Пучков Александр Анатольевич, заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по научной специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

Диссертационная работа Пучкова Александра Анатольевича обсуждена, отзыв заслушан и одобрен на расширенном научном семинаре Центра

нейробиологии и нейрореабилитации имени Владимира Зельмана 14 мая 2025 г. (протокол № 1 от 14 мая 2025 г.).

На автореферат диссертации поступило 4 отзыва.

1. Отзыв д.х.н., профессора центра фотоники и фотонных технологий автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковский институт науки и технологии», Горина Дмитрия Александровича, положительный. Содержит следующее замечание:

1) К сожалению, в автореферате, я не нашел информацию о значении электрокинетического потенциала наночастиц, а также информации об их агрегативной устойчивости во времени в воде, физиологическом растворе, PBS буфере, культуральной среде и плазме крови.

2. Отзыв к.х.н., научного сотрудника кафедры Медицинской химии и тонкого органического синтеза Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, Шуткова Ильи Александровича, положительный, содержит следующее замечание:

1) При изучении гидролитической деградации использовалась только чистая вода при физиологических условиях, а не фосфатные или карбонатные буферные растворы или сыворотка.

3. Отзыв к.х.н., ведущего научного сотрудника лаборатории Биоорганических структур Отделения «Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова» Курчатовского комплекса кристаллографии и фотоники (КККиФ) НИЦ «Курчатовский институт», Паллаевой Татьяны Николаевны, положительный. Содержит следующие вопросы:

1) Термины «наносомальная форма» и «наночастицы» используются как синонимы, хотя они могут подразумевать разные аспекты. Желательно уточнить определения.

2) Для наночастиц на основе PLLA-MPEG не приведены данные по стабильности в биологических средах (например, в плазме крови), что важно для оценки их практического применения.

- 3) Хотя *in vivo* эксперименты подтвердили эффективность наносомальной формы оксалиплатина, отсутствует анализ возможных побочных эффектов или иммунного ответа на полимерные носители.
- 4) Отзыв к.х.н., старшего научного сотрудника, заведующего лабораторией Количественной онкологии Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (ИБХФ РАН), Никольской Елены Дмитриевны, положительный. Не содержит замечаний.

Соискатель Пучков Александр Анатольевич имеет 6 опубликованных работ в реферируемых журналах, рекомендованных ВАК, в которых изложены основные результаты диссертации. Результаты работы были опубликованы в 9 тезисах и представлены в виде стендовых и устных докладов на следующих научных конференциях: 63-я и 64-я Всероссийская научная конференция МФТИ (г. Москва, 2020, 2021), VIII Всероссийская Каргинская конференция «Полимеры в стратегии научно-технического развития РФ «Полимеры-2020» (г. Москва, 2020), VIII и IX Бакеевская международная конференция «Макромолекулярные нанообъекты и полимерные нанокомпозиты» (г. Москва, 2020, 2023), III Школа-конференция для молодых ученых «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы» (с международным участием) (г. Казань, 2021), IX Всероссийская научная молодежная школа-конференция «Химия, физика, биология: пути интеграции» (г. Москва, 2022), Молодежная конференция «Тканеинженерные конструкции и материалы для биомедицины» (г. Санкт-Петербург, 2022), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов - 2023» (г. Москва, 2023).

Публикации по теме диссертации:

1. Synthesis and characterization of well-defined star-shaped poly(L-lactides) / A. A. Puchkov, N. G. Sedush, A. I. Buzin, T. N. Bozin, A. V. Bakirov, R. S. Borisov, S. N. Chvalun // Polymer. – 2023. – Vol. 264. – P. 125573(1-11).
2. Синтез биоразлагаемых полимеров на основе L-лактида в присутствии безметаллового органического катализатора / А. А. Пучков, Н. Г. Седуш, А. С.

Чиркова, Т. Н. Бозин, С. Н. Чвалун // Высокомолекулярные соединения. Серия Б. –2023. – Т. 65. – № 4. – С. 265-274.

3. Физико-химические характеристики и антипролиферативная активность водорастворимой наносомальной формы комплекса PtIV с лигандом на основе лонидамина / А. А. Пучков, Н. Г. Седуш, А. А. Назаров, С. Н. Чвалун // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2024. – Т. 73. – № 1. – С. 213-220.

4. Линейные и разветвленные полимеры лактида для систем направленной доставки лекарственных средств / В. И. Гомзяк, Н. Г. Седуш, А. А. Пучков, Д. К. Поляков, С. Н. Чвалун // Высокомолекулярные соединения. Серия Б. – 2021. – Т. 63. – № 3. – С. 190-206.

5. Наносомальные лекарственные формы на основе биоразлагаемых сополимеров лактида с различной молекулярной структурой и архитектурой / Н. Г. Седуш, Ю. А. Кадина, Е. В. Разуваева, А. А. Пучков, Е. М. Широкова, В. И. Гомзяк, К. Т. Калинин, А. И. Кулебякина, С. Н. Чвалун // Российские нанотехнологии. – 2021. – Т. 16. – № 4. – С. 462-481.

6. Synthesis and electrospinning of star-shaped poly(L-lactide) with different arm lengths / A. A. Puchkov, T. K. Tenchurin, V. G. Mamagulashvili, A. D. Shepelev, K. T. Kalinin, Yu. A. Kadina, R. A. Kamyshinsky, N. G. Sedush, S. N. Chvalun // Journal of Physics: Conference Series. – 2019. – Vol. 1347. – P. 012098(1-7).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью ученых-экспертов, и наличием у них научных публикаций в области синтеза, модификации, катализа и исследования свойств биоразлагаемых полимерных соединений в том числе на основе лактида, а также создании и тестировании наносомальных форм лекарственных препаратов.

Диссертационная работа Пучкова Александра Анатольевича посвящена синтезу и изучению звездообразных биоразлагаемых полимеров на основе лактида, предназначенных для адресной доставки лекарств. Основным результатом работы является синтезированная и охарактеризованная автором серия 3-х, 4-х и 6-ти лучевых звездообразных полилактидов с разными

концевыми функциональными группами. Исследована кинетика полимеризации L- и D,L-лактида в присутствии мультифункциональных соинициаторов триметилпропана, пентаэритрита и дипентаэритрита при заданной степени полимеризации лучей $n = 10, 25, 50$ и 100 , определены эффективные константы скорости реакции, показано, что полимеризация имеет «псевдоживой» характер и подчиняется уравнению первого порядка по мономеру. Установлено влияние структуры соинициатора на кинетику полимеризации и скорость инициирования функциональных групп. С использованием комплекса методов (ЯМР, ГПХ, МАЛДИ) показано, что была синтезирована серия звездообразных PLLA_n (поли-L-лактидов) и PDLLA_n (поли-D,L-лактидов) с молекулярной массой от 2 до 44 кДа, числом лучей $f = 3, 4$ и 6 и минимальным содержанием побочных неразветвленных продуктов. Методом ДСК показано, что увеличение количества лучей при их одинаковой молекулярной массе может приводить к увеличению температуры стеклования звездообразных полилактидов. При $n = 10$ и 25 разница в температуре стеклования 3-х и 6-ти лучевых образцов может достигать $11\text{ }^{\circ}\text{C}$. В зависимости от состава и строения поли-D,L- и L-лактидов их температура стеклования варьируется в пределах от 32 до $61\text{ }^{\circ}\text{C}$, а температура плавления поли-D,L- и L-лактидов от 102 до $164\text{ }^{\circ}\text{C}$. Установлено, что гидролитическая деградация 3-х и 6-ти лучевых PLLA_n и PDLLA_n ($n = 25$ и 100) протекает по смешанному механизму и сопровождается формированием мультимодального молекулярно-массового распределения. Показано, что в исследуемом диапазоне молекулярных масс регулирование характеристик макромолекул и природы концевых групп (-ОН или -COOH) позволяет варьировать длительность деградации материалов от 1.5 месяцев до 2 лет. Для получения амфифильных наночастиц была проведена модификация звездообразных PLLA_n (n от 10 до 50) прививкой гидрофильных блоков полиэтиленгликоля с молекулярной массой 2 кДа. Анализ водных дисперсий наночастиц на основе синтезированных блок-сополимеров показал, что число лучей в исходных макромолекулах в большей степени оказывает влияние не на размер образующихся наночастиц, а на их агрегативную устойчивость. Автором продемонстрировано, что наночастицы на

основе звездообразных блок-сополимеров поли-L-лактид-блок-полиэтиленгликоль являются биосовместимыми и способны накапливаться в раковых клетках, солюбилизовать противоопухолевые препараты из группы координационных соединений платины (до 4 масс.%), а также 5-фторурацил (до 15 масс.%), что делает их перспективными носителями для адресной доставки лекарственных средств. В эксперименте *in vivo* было показано, что разработанная наносомальная форма оксалиплатина, на основе 6-ти лучевого блок сополимера PLLA₁₀-MPEG₄₅, замедляет рост опухоли на 34%, повышает удельную продолжительность жизни животных и демонстрирует улучшенный профиль распределения в тканях по сравнению с контрольным образцом.

Актуальность работы

Биоразлагаемые сложные полиэфиры, в частности, полилактид (PLA) и его сополимеры, являются перспективными соединениями для применения в биомедицине при изготовлении шовных материалов, крепежных изделий, клеточных матриц и систем доставки лекарств. Но ввиду хрупкости, низкой ударной вязкости и прочности расплава, присущим PLA, его использование ограничено. Для улучшения или модификации физико-химических свойств PLA в последние годы активно внедряется синтез его аналогов с разветвленным, в частности, звездообразным, молекулярным строением. Разветвленная структура влияет на теплофизические, реологические и механические характеристики полимера, а также на закономерности процесса его деградации. Большее количество концевых функциональных групп в звездообразных PLA по сравнению с линейными аналогами улучшает их растворимость, а также позволяет проводить дальнейшую химическую модификацию биологически активными соединениями, что может быть использовано для направленной доставки лекарственных средств (ЛС), а также для задач тканевой инженерии. Установлено, что физико-химические характеристики разветвленных PLA зависят от типа, состава и молекулярного строения концевых групп. Полученные данные актуальны для развития подходов для получения материалов с целью решения конкретных биомедицинских задач. Одним из способов модификации концевых групп звездообразных PLA является синтез

амфифильных блок-сополимеров полилактид-блок-полиэтиленгликоль (PLA-MPEG), которые являются биосовместимыми и способны самоорганизовываться в водной среде с образованием наночастиц, что может быть использовано для солюбилизации и доставки ЛС в раковые клетки. Благодаря внедрению ЛС в полимерные наночастицы, снижается их иммуногенность, в то же время повышается стабильность и увеличивается время циркуляции в организме. Также возможно модифицировать макромолекулы контрастирующими агентами для визуализации распределения наночастиц в биологических тканях, а присоединение векторных лигандов позволит осуществить селективное связывание с рецепторами на поверхности раковых клеток. Таким образом это позволит создать высокоселективные наносомальные формы лекарственных средств на основе звездообразных блок-сополимеров PLA-MPEG, что обуславливает перспективность и актуальность диссертационного исследования Пучкова А.А.

Цель диссертационной работы Пучкова А.А. заключается в разработке оптимальных методик синтеза звездообразных биоразлагаемых полилактидов с различными концевыми функциональными группами, в том числе модифицированными прививкой полиэтиленгликоля, а также в изучении влияния строения и состава синтезированных полимеров на их физико-химические свойства, на кинетику деградации и на параметры получаемых на их основе наночастиц.

Научная новизна полученных результатов. Автором проведено систематическое исследование кинетики полимеризации L- и D,L-лактида в расплаве в присутствии мультифункциональных со-инициаторов триметиолпропана, пентаэритрита, дипентаэритрита. Впервые методом гель-проникающей хроматографии для звездообразных полилактидов были определены поправочные коэффициенты для пересчета молекулярной массы, определенной относительно полистирольных стандартов, в абсолютные значения. Впервые исследованы закономерности процесса гидролитической деградации при температуре 37 °С 3-х и 6-ти лучевых поли-L-лактидов (PLLA) с различной степенью кристалличности и поли-D,L-лактидов (PDLLA) с

концевыми гидроксильными и карбоксильными группами. Показано, что метод нанопреципитации позволяет получать наночастицы с узким распределением по размерам со средним размером 16 нм на основе полимеров со степенью полимеризации поли-L-лактидного блока 10. Впервые была получена серия наночастиц на основе звездообразных блок-сополимеров PLLA-MPEG, содержащих противораковые препараты в виде комплексов Pt(IV) и Pt(II) (оксалиплатин), с высоким показателем эффективности загрузки. Продemonстрирована возможность одновременной солюбилизации наночастицами комбинации оксалиплатина и 5-фторурацила. Разработана новая наносомальная форма оксалиплатина, которая обладает более низким уровнем общей токсичности и повышенной терапевтической эффективностью в лечении карциномы толстой кишки.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость диссертационного исследования Пучкова А.А. состоит в установлении кинетических закономерностей полимеризации лактида в присутствии многоатомных спиртов, а также в определении эффективных констант скорости роста цепи. Продemonстрирована возможность синтеза 3-х лучевого звездообразного PLA при высокой степени конверсии мономера с использованием катализаторов, не содержащих атомы металлов. Исследовано влияние строения, молекулярной массы, степени кристалличности, а также природы концевых групп на скорость гидролитической деградации звездообразных PLA, что позволит создавать материалы медицинского назначения с контролируемой продолжительностью биоразложения.

Автором получены биосовместимые наночастицы на основе блок-сополимеров PLLA-MPEG, которые способны солюбилизовать как гидрофильные, так и гидрофобные противораковые препараты. В эксперименте *in vivo* была подтверждена эффективность действия разработанной наносомальной формы оксалиплатина, что указывает на перспективность ее применения для доставки лекарственных средств в организме человека, что доказывает практическую значимость данной работы.

Диссертация Пучкова А.А. соответствует пунктам 2, 3, 4 и 9 паспорта научной специальности 1.4.7 – «Высокомолекулярные соединения» и отрасли науки – химические. Результаты работы были опубликованы в виде 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК. Материалы работы также были представлены в виде устных и стендовых докладов на 9 российских и международных конференциях.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания и вопросы:

1. Степень полимеризации у вас одного луча или общая? Конверсия 87% предельная чем определяется?
2. Согласно литературному обзору в одном из обоснований актуальности работы говорится о том, что существует проблема полимерного загрязнения планеты, в то же время тема диссертации у вас касается конкретного биомедицинского применения. Дело в том, что здесь есть определенные противоречие, заключающееся в том, что научный совет по высокомолекулярным соединениям ОХНМ РАН разработал концепцию, которую продвигает в течение 3-х лет, связанную с минимальным влиянием биоразлагаемых полимеров на решение проблемы загрязнения планеты. В плане биоразложения - это такая тупиковая ветвь эволюции. Поясните, вы не знакомы с этими данными или вы считаете их неверными? Можете ли вы дать какое-то обоснование почему вы остановились на функциональности звезд 3, 4, 6? И считаете ли вы это оптимальным? Представляете ли вы себе, где происходит качественный переход между просто разветвленным звездообразным полимером и многолучевой звездой, на каком числе лучей?
3. На 22 слайде у вас указаны размеры 16, 18 нм, это размер наночастиц в растворе? Предполагается ли адресная доставка в пораженные клетки, какой механизм адресной доставки и насколько такой размер является оптимальным для адресной доставки?
4. Карбоксильные группы способствует улучшенной гидролитической деградации полимеров? Какой механизм: внутримолекулярный или

межмолекулярный, не было бы логично ввести карбоксильные группы в сферу лучей полимеров?

5. Какой основной механизм деградации превалирующий, по закону случая или по концевой группе? Что делает концевая карбоксильная группа? Что такое объемный характер разложения? С чем связана разница в изменении физической массы для 3-х и 6-ти лучевых полимеров?
6. Поясните кривые ДСК, приведенные на слайде, после отжига и после закалки, какие процессы идут, с чем связаны двойные пики?
7. Элементарный акт процесса гидролитической деструкции полилактида – это взаимодействие с водой с разрывом связи. Молекула воды через кристалл не пойдет, значит она идет через аморфные области. Результаты у вас от 2 дней до 2 лет, три-четыре порядка, что происходит в системе, ведь вода – это диффузия, вы на четыре порядка способны определять коэффициент диффузии, маловероятно, поскольку плотность не меняется, откуда возникает эффект пролонгированной стойкости? Откуда берутся временные масштабы или что-то еще не учитывается до конца?
8. Т.е. фактически тогда у вас этот эффект связан с тем, что система находится в разном фазовом состоянии, ваша система потенциально вся метастабильна и будет зависеть от условий приготовления вашего материала. Как его тогда использовать? Возникает длительное хранение, процессы отжига, релаксации и т.д., если это релаксационные процессы. Правильно ли тогда, если вы готовите препарат, он должен храниться в абсолютно сухой атмосфере до момента его использования?

Соискатель Пучков А.А. согласился с высказанными замечаниями, ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию:

1. Да, степень полимеризации одного луча. В ходе доклада я озвучивал, что конверсия мономера близкая к равновесной во всех случаях составила 96-98%, а про 87% речь шла о конверсии функциональных групп со-инициатора спустя 10 минут полимеризации, которая потом в любом случае достигала значений близких 100%.

2. Безусловно, в литературном обзоре на начальных страницах упоминалось преимущество различных биоразлагаемых полимеров, в том числе и сложных полиэфиров в рамках вопроса о загрязнении экологической среды, а также об источнике возобновляемых ресурсов для синтеза этих полимеров, в том числе различные сахара моно-, ди-, полисахариды. Основной аспект в литературном обзоре был сделан не на проблематику загрязнения полимерными отходами окружающей среды. Но что касается вашего вопроса, я скорее был незнаком с данными, о которых вы говорили. Мне кажется, актуальный аспект применения данных полимеров в явном виде высказан в литературном обзоре. Выбор используемых мультифункциональных спиртов был обусловлен, тем что трехлучевые полимеры – это переход, т.е. что-то среднее между линейными объектами и звездообразными, 4-х лучевые тоже можно отнести к пограничному, а 6-ти лучевые являются ярким представителем в целом звездообразных полимеров, не переходя к сверхразветвленным молекулам. Выбор данных со-инициаторов обусловлен тем, что и в литературе и в целом присутствуют разного рода работы, в том числе по изучению кинетики полимеризации в присутствии мультифункциональных соединений, но во многих работах используются со-инициаторы с разной природой функциональных групп, в том числе первичные и вторичные гидроксильные группы, что так или иначе оказывает влияние на кинетику полимеризации, поэтому мы выбрали здесь со-инициаторы, обладающие первичными функциональными гидроксильными группами. Что касается перехода от звездообразного строения к многолучевым, это сильно зависит от исследуемого аспекта, но в рамках данной работы в наночастицах с увеличением степени ветвления для высокой степени полимеризации гидрофобного блока, мы наблюдаем, например, уменьшение гидродинамического диаметра по мере увеличения степени ветвления, что может свидетельствовать о склонности к формированию в конечном итоге мономолекулярных мицелл, поэтому я думаю что на 6-ти лучевых объектах уже в полной мере проявляются

эффекты именно строения на свойства. Далее, наверное, будет наблюдаться переход к многолучевым объектам.

3. Да, приведенные значения – это гидродинамический диаметр наночастиц. Адресность подразумевается за счет пассивного нацеливания, за счет увеличения размера самого лекарственного соединения путем солюбилизации его в полимерных наночастицах. Долгое время считалось, что наиболее оптимальным для достижения данного эффекта являются наночастицы с размером 100-200 нм, однако последнее время прослеживается тенденция, что различные типы опухолей характеризуются различной степенью проницаемости. В ходе формирования злокачественных образований в условиях гипоксии, в условиях быстрого деления раковых клеток, наблюдается нарушение их эндотелия кровеносных сосудов, так называемые фенестрации, которые долгое время и сейчас используются для пассивной доставки лекарственных средств путем включения в полимерные наночастицы. Последние исследования показывают, что наиболее оптимальными с точки зрения размеров являются частицы от 20 до 100 нм, поскольку такой размер позволяет не только уменьшить опсонизацию, и соответственно долю наночастиц поглощенных макрофагами ретикулоэндотелиальной системы, но и этот размер является оптимальным со стороны загрузки и накопления в раковых клетках. Также хотел упомянуть, что линия клеток, которая была исследована в данной работе, аденокарциномы толстой кишки, эта опухоль характеризуется высокой проницаемостью поэтому для нее может быть в меньшей степени отражается эффекты разного размера 20, 50 или 70 нм по отношению к эффективности накопления, но, например, для других видов злокачественных образований, таких как карцинома поджелудочной железы, было показано, что эффективность накопления полимерных наночастиц с размерами 25-30 нм в несколько раз выше чем с размерами 70 нм из-за низкой проницаемости.
4. Безусловно здесь включается так называемый эффект «автокатализа», когда при гидролитической деградации образуются концевые гидроксильные и карбоксильные группы, которые существенно ускоряют процесс. С точки

зрения внутри- или межмолекулярном взаимодействии, поскольку процесс происходит в твердой фазе, то можно сказать, что в большей степени речь идет о межмолекулярном, но для дальнейшей потенциальной возможности регулирования скорости деградации путем внедрения не только концевых групп, но и внутри полимерных цепей это безусловно было бы актуально и позволило бы в большей степени варьировать параметры не только с помощью числа лучей, но и соответственно путем боковой модификации.

5. Механизм смешанный с преобладанием объемного характера разложения. Объемный характер определяется соотношением коэффициента диффузии воды и скорости гидролитического разрыва связей, если коэффициент диффузии воды существенно преобладает, то мы имеем дело с объемным характером разложения материала, т.е. в случае, где лимитирующей стадией не является диффузия. В большей степени на начальном этапе проявляется разрыв гидролитический по закону случая, в явном виде это наблюдается, поскольку на начальных этапах молекулярная масса в большей степени изменяется нежели чем физическая масса. Инкубационный период, который мы наблюдаем, также является следствием признака преобладания автокатализа. Далее по мере разложения, доходя до определенного значения молекулярных масс, уже в меньшей степени наблюдается влияние разрыва цепей на изменение молекулярной массы, в тоже время преобладает падение физической массы, что уже свидетельствует о переходе от случайного разрыва к другому механизму. Наблюдаемую разницу в изменении физической массы для 3-х и 6-ти лучевых полимеров мы связываем с различной динамикой изменения степени кристалличности полимеров. За первое время идет докристаллизация, так как это поли-L-лактид, что, по-видимому, уменьшает степень сорбции воды на начальном этапе, а в случае с 6-ти лучевым, он дольше остается аморфным, что облегчает проникновение воды и соответственно ускоряется гидролитическая деградация, приводящая к наблюдаемым изменениям в случае низкомолекулярных образцов.
6. Гомополимеры, как поли-L- так и поли-D,L-лактиды, были исследованы с помощью ДСК для определения теплофизических свойств. Условия, при

которых происходило исследование образцов – это два нагрева, первый нагрев после отжига, который мы проводили при температуре кристаллизации, в основном для определения максимально возможной степени кристалличности. Пунктирной линией в данном случае отображен второй нагрев после быстрой аморфизации, т.е. охлаждения данных соединений также в приборе для того, чтобы определить температуру стеклования по второму нагреву. Касательно двойных пиков плавления, которые наблюдаются в некоторых случаях, по литературным данным это в большей степени относится к наличию в системе различных по размеру кристаллитов, а также различной степени их совершенства. Видно, что она (доля двойных пиков) увеличивается по мере увеличения средней степени полимеризации лучей, что также коррелирует с литературными данными. Также иногда эти процессы связывают с образованием α' -фазы поли-L-лактида, но в данном случае это не имеет к этому отношения, поскольку такая фаза образуется строго при температурах меньших, чем мы применяли в процессе отжига данных полимеров в районе 110-115 °C, кроме того, в таком случае мы бы наблюдали не двойной пик плавления, а экзотермический пик докристаллизации, который бы переходил в плавление.

7. В большей степени на данный эффект оказывает влияние изначальная степень кристалличности полимеров. Большой вклад здесь вносит увеличение температуры стеклования, изначальные значения которой порядка 30-37°C, в случае низкомолекулярных образцов, в большей степени способствуют их гидролитической деградации, в то время как для высокомолекулярных температура стеклования была гораздо выше и в меньшей степени способствовала пластификации водой.
8. Для этого были исследованы два вида материалов на основе звездообразных поли-L-лактидов: аморфизованные и с высокой степенью кристалличности, соответственно, чтобы понять непосредственное влияние степени ветвления на процесс гидролитической деградации, в том числе на процесс докристаллизации и т.д. Да, вы абсолютно правы. Подразумевается герметичное хранение.

Исследование Пучкова А.А. выполнено на высоком научном уровне. Результаты диссертационной работы вносят заметный вклад в развитие науки и технологии в области биоразлагаемых полимерных материалов для биомедицинского применения.

Диссертационный совет считает, что диссертация Пучкова А.А. полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. На заседании диссертационного совета, прошедшем 19 июня 2025 г., принято решение: за разработку метода синтеза и изучение строения и свойств звездообразных биоразлагаемых полимеров на основе лактида для адресной доставки лекарств, присудить Пучкову Александру Анатольевичу ученую степень кандидата химических наук по специальности 1.4.7. – высокомолекулярные соединения.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 14 докторов наук, участвовавших в заседании, из 18 человек, входящих в состав, проголосовали: «за» - 14, «против» - 0, воздержавшихся нет.

Председатель
диссертационного совета
24.1.116.01 (Д 002.085.01),
д.х.н., чл.-корр. РАН

Ученый секретарь
диссертационного совета,
д.х.н.
19.06.2025 г.



Озерин Александр Никифорович

Борцев Олег Валентинович