

ОТЗЫВ

официального оппонента Мелик-Нубарова Николая Сергеевича на диссертационную работу Хаптахановой Полины Анатольевны «Полимерные композиции на основе биополимеров и наночастиц бора для нейтронозахватной терапии», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения (химические науки).

Ядра изотопа бора ^{10}B обладают уникальным свойством, заключающимся в исключительно высоком сечении захвата тепловых, т.е. малоэнергетических, нейтронов – 3990 барн. Эта особенность ядер ^{10}B обусловлена нечетным количеством нейтронов в ядре, вследствие чего тепловые нейтроны легко поглощаются с образованием возбужденного изотопа ^{11}B , который далее легко диспропорционирует с еще одним нейтроном и ядрами ^{10}B с образованием альфа-частицы, γ -кванта и стабильного изотопа ^7Li . Эта особенность изотопа бора впервые была открыта еще в 30-годах прошлого века и G. Locher предложил ее использование для терапии рака, а этот подход получил название бор-нейтронозахватной терапии (БНЗТ). В настоящее время в Новосибирске построена установка для БНЗТ, и диссертантка значительную часть работы выполнила, используя эту установку.

Важнейшей проблемой БНЗТ является создание инъекционных форм борсодержащих препаратов. В настоящее время в России используются производное фенилаланина и комплексы с полисахаридами. Для этих целей было предложено множество подходов, состоящих, в частности, в применении карборанов, их конъюгатов с порфиринами, различных комплексов с полисахаридами и т.д. Идея работы Полины Анатольевны Хаптахановой состояла в разработке принципиально нового подхода, позволяющего резко увеличить эффективность загрузки раковых клеток элементом ^{10}B за счёт получения стабильных дисперсий наночастиц бора, стабилизированных полимерными носителями, что и определяет как актуальность, так и новизну рецензируемой работы.

Получение наночастиц, стабилизированных полимерами, как правило осуществляют путем восстановления оксидов металлов в присутствии полимерных носителей. Этот подход очень прост и проявляет высокую эффективность. Однако он совершенно неприменим для неметаллов, поскольку их восстановление требует чрезвычайно жестких условий. Поэтому в работе был применен, наверное, наиболее простой и эффективный способ диспергирования элементарного бора с помощью ультразвука.

Диссертационная работа П.А. Хаптахановой построена традиционным образом. В **обзоре литературы** автор подробно рассматривает принципы БНЗТ, упоминает некоторые

лекарственные формы бора, применимые для БНЗТ и приводит примеры ее использования в клинической практике. Далее автор приводит подробный обзор по методам синтеза наночастиц элементного бора и типах кристаллической решётки, обнаруживаемой в наночастицах, рассматривает свойства некоторых полисахаридов, полимолочной кислоте (ПМК) и полиаминокислотам. Обзор написан очень умно и интересно. К сильной стороне не только обзора литературы, но и всей диссертации в целом стоит отнести активное использование таблиц, как способа систематизации информации. Это сильно облегчает восприятие материала и позволяет использовать данный обзор литературы как справочный источник информации.

Методический раздел диссертационной работы также написан очень подробно. В нем содержатся подробные методики ультразвукового диспергирования частиц элементного бора, очистки наночастиц, механохимического получения сополимеров, а также описания всех физикохимических методов, использованных в работе. Широта использованных подходов является также большим преимуществом данного диссертационного исследования.

В **третьей главе** автор диссертации переходит к обсуждению полученных результатов исследования. Глава разделена на три части, в первой изложены результаты исследований наночастиц бора, полученные с применением ультразвукового диспергирования. Подробно охарактеризованы свойства их поверхности, морфология в зависимости от интенсивности ультразвукового воздействия. Определена предельная диспергируемость микронных частиц бора, как итог, выделена узкодисперсная фракция частиц менее 20 нм. Несомненно, важным является то, что автором работы был разработан опытно-промышленный ультразвуковой комплекс, позволяющий перейти к масштабному производству борных частиц заданного нанометрового размера. Поразительный результат получен при рентгенофазовом анализ наночастиц бора. Оказалось, что длительное воздействие ультразвука приводит к изменению аллотропной модификации бора по сравнению с исходным препаратом – аморфный бор переходит в кристаллическую форму, проявляющую более высокую стабильность по отношению к окислителям. При этом по данным XPS поверхностные слои наночастиц, полученных длительной обработкой ультразвуком свободны от примесей оксидов и покрыты только атомами бора.

Во **второй части третьей главы** приведены исследования полимерных носителей наночастиц бора. Оценена агрегативная устойчивость частиц бора в полисахаридных матрицах, определены оптимальные условия стабилизации. Проведены исследования по оценке распределения бора в водных растворах анионных полисахаридов – гиалуроновой кислоты и гидроксипропилцеллюлозы. Было обнаружено, что при уменьшении размера частиц

бора и увеличении избытка полисахарида по отношению к наночастицам растёт стабильность дисперсии.

Далее автор переходит к описанию результатов, полученных при исследовании амфифильных сополимеров полилизина и полимолочной кислоты. Полимолочная кислота была получена в два этапа: вначале получали олигомеры с помощью поликонденсации в расплаве при удалении воды при пониженном давлении, а на второй стадии проводили дополиконденсацию в твердой фазе при температуре ниже температуры плавления кристаллического полимера. Этот подход, предложенный ещё Паулем Флори в 1939, основан на возможности реакции между концевыми группами конденсационного полимера в твердой фазе за счет того, что низкомолекулярные продукты реакции вытесняются в аморфную фазу, а растущая полимерная цепь кристаллизуется, оставаясь твердой. Этот подход был успешно применен для получения относительно высокомолекулярного полимера молочной кислоты, которая в дальнейшем модифицировалась поли-ε-лизинном, полученным методом карбоксиангидридного синтеза. Реакцию между полимерами проводили также в твердом состоянии механохимическим методом. Полученный сополимер далее тщательно очищали с помощью фракционного растворения и осаждения гомополимеров, в результате чего получили продукт, содержащий как лизиновые, так и лактатные группы. Состав полимера доказывали методами протонного ЯМР и ИК-спектроскопии. По всей видимости, в твердом состоянии при воздействии механического поля (мельниц) происходит нуклеофильная атака α-аминогрупп ε-полилизина по сложноэфирным связям полимолочной кислоты, в результате чего происходит прививка цепей ПМК к поли-ε-лизину. Полученные амфифильные сополимеры образовывали в водном растворе мицеллы, радиус инерции которых и гидродинамический радиус были определены с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния и динамического светорассеяния соответственно. Получающееся соотношение $R_g/R_h = 1.2$ не соответствует модели непротекаемых сфер ($R_g/R_h = 0.77$) и скорее свидетельствует об образовании полидисперсных агрегатов различной формы, что неудивительно при использованном методе синтеза. Тем не менее полученные сополимеры эффективно сорбировали наночастицы бора и стабилизировали их в растворе. По всей видимости, катионный заряд поли-ε-лизина способствует электростатическому взаимодействию с наночастицами бора.

В третьей части главы 3 описаны результаты исследования полноценного комплекса биологических испытаний, как *in vivo*, так и *in vitro*. Продемонстрирована эффективность разработанных полимерных композиций с наночастицами бора: токсический эффект не выражен для систем *in vitro/in vivo* после введения композиций. После нейтронного облучения клеточного материала с частицами бора в полисахаридах выражен

существенный эффект по снижению жизнеспособности клеток. Таким образом, разработанные в работе подходы создания комплексов наночастиц бора с водорастворимыми и амфифильными полимерами обеспечивают эффективное накопление частиц бора в раковых клетках и позволяют избирательно элиминировать такие клетки за счет облучения пучком нейтронов. Согласно экспериментальным исследованиям *in vivo* уже для всех трех разработанных полимерных композиций, частицы бора накапливаются в пораженных областях, при этом, процент накопления бора зависит от типа полимерной матрицы.

В конце диссертационной работы приведены **заключение и выводы**, в которых полноценно отражены итог выполнения работы.

В то же время работа не свободна от некоторых недостатков.

- 1) Сополимеры поли-ε-лизина и полимолочной кислоты, полученные механохимическим методом, в работе называются блок-сополимерами, хотя, очевидно, по условиям синтеза, таковыми не являются. Скорее их надо называть привитыми сополимерами.
- 2) К сожалению, на рисунке 34 и в пояснениях ниже перепутаны подписи образцов, из чего следует, что молекулярная масса полилизина снижалась при прививке полимолочной кислоты. Эти данные противоречат данным, представленным в статье диссертанта в *J. Appl. Polymer Sci.*
- 3) В таблице 34 на стр. 118-119 в диссертации приводятся данные по количественному накоплению наночастиц бора в клетках человека. При этом оказывается, что концентрация наночастиц бора в клетках оказывалась равной его концентрации в объеме среды. В работе не указано, каким образом учитывался объем клеток, необходимый для получения концентрации бора в клетках методом ЭСП. Эти данные вызывают удивление, учитывая ничтожный объем клеток по сравнению с объемом среды (как правило, 0.1% или меньше).
- 4) В работе содержатся стилистические неточности, грамматические несогласования и пропуски слов.

Несмотря на сделанные замечания, работа производит прекрасное впечатление и содержит новые оригинальные данные. Автореферат и публикации адекватно и полно отражают основное содержание диссертации. Диссертационная работа Хаптахановой П. А. «Полимерные композиции на основе биополимеров и наночастиц бора для нейтронозахватной терапии», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7. – высокомолекулярные соединения, является законченным научно-квалифицированным исследованием. На мой взгляд, рецензируемая

диссертационная работа соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (п. 9-14), утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с учетом изменений и дополнений), предъявляемым ВАК России к кандидатским диссертациям, соответствует паспорту специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения (п. 2, 4, 9). Автор диссертационной работы Хаптаханова Полина Анатольевна заслуживает присвоения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.


/ д.х.н., Мелик-Нубаров Н. С.
« 4 » июня 2024 г.

Официальный оппонент

Ведущий научный сотрудник Химического факультета Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова
Доктор химических наук (02.00.06. Высокомолекулярные соединения)
Мелик-Нубаров Николай Сергеевич

119234, г. Москва, Ленинский горы, д.1, строение 40, лабораторный корпус «А»,
Тел.: (495) 939 31-27, e-mail: melik.nubarov@belozersky.msu.ru

Подпись д.х.н. Мелик-Нубарова Николая Сергеевича заверяю

