

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
**ИНСТИТУТ ХИМИИ РАСТВОРОВ**  
**им. Г.А. КРЕСТОВА**  
**РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**  
**(ИХР РАН)**

Академическая ул., д.1, Иваново, 153045  
Тел./факс (4932) 336259 / 336265  
E-mail: adm@isc-ras.ru, http://www.isc-ras.ru  
ОКПО 04740840, ОГРН 1023700546066  
ИНН/КПП 3730001757/370201001

03.03.17 № 12206-117

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

Председателю диссертационного  
совета Д 501.001.90 доктору  
химических наук, профессору,  
академику РАН В.В. Лунину

Глубокоуважаемый Валерий Васильевич!

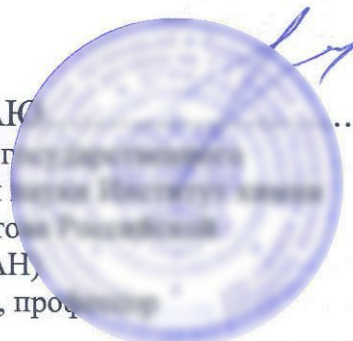
В соответствии с Вашим письмом № 23/24-90/104-03 от 14.02.2017 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук направляет Вам отзыв ведущей организации на диссертационную работу Гопина Александра Викторовича на тему: «Преобразование и концентрирование акустической энергии на искусственно созданных неоднородностях в гидрогелевых средах», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Приложение: Отзыв ведущей организации в 2-х экземплярах.

Ученый секретарь ИХР РАН  Иванов Константин Викторович

## УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного бюджетного учреждения «Институт химии растворов им. Г.А. Крестов» Российской Академии Наук (ИХР РАН), доктор химических наук, профессор  
Киселев М. Г.



02.03.2017

## ОТЗЫВ

ведущей организации на работу Гопина Александра Викторовича «Преобразование и концентрирование акустической энергии на искусственно созданных неоднородностях в гидрогелевых средах», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04-физическая химия.

Онкологические болезни представляют собой обширный и разнородный класс заболеваний. Онкологические заболевания являются системными и затрагивают, так или иначе, все органы и системы человека. Существует множество форм и вариантов течения рака. В настоящее время терапия онкологических заболеваний предполагает подходы лечения ориентированные на больных. Среди таких подходов следует отметить мероприятия воздействия на опухоли ультразвуком, одним из которых является сонодинамическая терапия. К сожалению, сейчас не существует подходов подбора эффективных соносенсибилизаторов и режимов ультразвукового воздействия. Именно такие проблемы и не позволяют созданию и внедрению препаратов на основе соносенсибилизаторов для сонодинамической терапии рака. Поэтому создание научных основ дизайна соносенсибилизаторов с заданными физико-химическими свойствами и контролируемой доставкой до мест их «функционирования» является **актуальной** задачей создания медицинских препаратов нового поколения.

Основной целью работы было выявление факторов, определяющих величины температурных и кавитационных ультразвуковых эффектов в гидрогелевых средах (гидрогели агарозы, полиакриламида, желатины, плуроника), модифицированных твердофазными включениями.

**Практическая значимость работы** не вызывает никаких сомнений, поскольку на основании полученных результатов гидроксиапатит может быть рекомендован для проведения доклинических экспериментов по ультразвуковой терапии злокачественных опухолей в качестве соносенсибилизатора. Кроме этого, по результатам проведенных исследований было получено три патента.

Диссертационная работа состоит из следующих частей: введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и обсуждения, основных результатов и выводов, списка литературы.

Литературный обзор (Глава I) состоит из пяти разделов. В первом разделе описаны процессы кристаллизации в гидрогелевых средах монокристаллов, поликристаллов и мезокристаллов фторапатита, кальцита и арагонита. Показано влияние природы гелей на морфологию получаемых наночастиц. Кроме этого, отмечено влияние природы гелей на формирование различных полиморфных форм соединений. В следующем разделе описаны ультразвуковые эффекты в водных средах. Здесь приводятся основные определения ультразвука, законы его распространения и источники ультразвуковых колебаний. Особое внимание уделено поглощению ультразвука в гетерогенных средах, классифицированы и описаны явления, которые возникают при взаимодействии ультразвука с взвесью микрочастиц. Кратко описаны ультразвуковые кавитационные явления, представлены методы и способы регистрации кавитационных пузырьков в различных средах, в том числе *in-vitro* и *in-vivo*. В третьем разделе охарактеризована ультразвуковая терапия в различных ее вариантах: физиотерапия, локальная ультразвуковая гипертермия для увеличения эффективности радио- и химиотерапии, сонодинамическая терапия рака, сонопорация. Здесь же приведены основные вещества, которые используются при сонодинамической терапии рака и обсуждены возможные механизмы их «работы». Подчеркнуты основные недостатки используемых соединений, связанные с их низкой растворимостью и указаны способы решения этой проблемы с применением различных систем доставки лекарств (создание сложной лекарственно-транспортной системы для сонодинамической или комплексной терапии онкологических заболеваний). В четвертом разделе первой главы представлены тканевые фантомы, имитирующие свойства биологических тканей для отработки характеристик и калибровки систем ультразвуковой визуализации. И, наконец, в пятом разделе аргументирован выбор объектов исследования и параметров ультразвукового воздействия. В целом, литературный обзор оставляет очень благоприятное впечатление и свидетельствует о том, что соискатель свободно ориентируется в предмете исследований, хорошо знает отечественную и зарубежную специальную литературу и умеет критически анализировать результаты исследований.

**Вторая глава** посвящена экспериментальным методам, используемым диссертантом в работе, а также характеристике изучаемых соединений. В этой главе приводятся синтезы гидрогелей, твердофазных модификаторов и модифицированных гидрогелей. Описаны установки по измерению температурных и кавитационных эффектов. Особое внимание уделено характеристике бактериальной модели и работе с животными для имитации опухолевой модели. Представлены установки, изготовленные и запатентованные авторами специально для проведения экспериментов на животных. Особо следует отметить применение Мессбауэровской спектроскопии, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии, а также рентгенофазного анализа. Для всех этих методик детально описаны процедуры препарирования образцов, что снимает множество вопросов при интерпретации результатов. Следует отметить, что широкий набор

используемых методик, соответствующий современному уровню развития экспериментальной науки, позволяет наиболее полно охарактеризовать рассматриваемые системы. Для каждой методики приведены калибровочные эксперименты и детально описана процедура оценки экспериментальных ошибок. Грамотный подбор и использование взаимодополняемых методик, несомненно, делают получаемые результаты достоверными и воспроизводимыми. Чтение этой главы убеждает, что Гопин А.В. является вдумчивым экспериментатором, овладевшим многими методиками и подходами для их грамотного использования.

**Третья глава** диссертации «Результаты и обсуждение» состоит из семи разделов. Каждый последующий раздел логически вытекает из предыдущего и это создает цельную картину из проведенных исследований и сделанных выводов. Первый раздел посвящен изучению кристаллизации различных твердофазных модификаторов в гидрогелевых средах. В работе была предпринята попытка оценить влияние полимерной матрицы гидрогеля на кристаллизацию твердофазного модификатора и определить реализующийся в том или ином случае тип локализации модификатора. Полученные результаты хорошо проиллюстрированы электронными микрофотографиями, которые однозначно подтверждают сделанные выводы. Хотелось бы также отметить попытки диссертанта проанализировать природу образующихся фаз в теле гидрогелей с использованием рентгенофазового анализа и Мессбауэровской спектроскопии. Если первый метод не дает особо значимых научных выводов, то второй метод позволил изучить эволюцию бездефектных и дефектных структур ферригидрита.

Второй подраздел посвящен анализу температурных эффектов ультразвукового воздействия. Задачей данной части работы являлось выявление на модельных гидрогелевых системах различных факторов, определяющих величину локального усиления поглощения ультразвука в гидрогелевых телах, связанного с введением в них твердофазных соносенсибилизаторов разной природы. В качестве этих факторов были выбраны – характер взаимодействия соносенсибилизатора с полимерной матрицей, величина собственного поглощения ультразвука гидрогелем, интенсивность ультразвукового воздействия, концентрация твердофазного включения, способ иммобилизации твердофазных соносенсибилизаторов в гидрогеле.

В третьем подразделе рассматриваются кавитационные эффекты ультразвукового воздействия. Задачей данного раздела работы являлась оценка возможного вклада гетерогенных включений в увеличение интенсивности кавитационных процессов в воде и гидрогелях, выявление качественных закономерностей этого процесса. Показано, что в водных средах времена инерции сигналов фотомножителя для сонолюминесценции при увеличении концентрации наночастиц существенно уменьшаются. Рассмотрен возможный механизм задержки свечения по отношению к началу озвучивания, основанный на процессах зародышеобразования кавитации. Получено, что модифицирование агарозного геля нано и микрочастицами гидрофобного типа

позволяет существенно снизить порог появления субгармоники, а, следовательно, и порог разрушения мягкого материала.

Четвертый подраздел третьей главы посвящен ферментативному синтезу твердофазных соносенсибилизаторов. Основным рассмотренным процессом являлся ферментативный гидролиз глицерофосфата кальция с последующим выделением гидроксиапатита. Главной задачей здесь было исследование динамики процесса фазообразования как в растворе, так и в различных гелях, а также влияние физико-химических параметров гелевой матрицы на структуру, морфологию и размер образующихся осадков в аспекте применения, синтезированных таким способом фосфатов кальция, в сонодинамической терапии. Показано, что можно управлять размерами, скоростью роста и степенью кристалличности структуры, варьируя условия ферментативного гидролиза глицерофосфата. Здесь же приводится возможная схема получения соносенсибилизатора в поверхностном слое опухоли с применением электрофореза. Этот подход предполагает гидролиз имеющихся в ней растворимых фосфатов и с точки зрения синтеза твердофазных соносенсибилизаторов является абсолютно новым.

Пятый подраздел дает оценку эффективности сочетанного действия твердофазных включений и ультразвука на живых системах. Этот раздел представляется очень интересным, поскольку описывает результаты *in-vitro* (на бактериях) и *in-vivo* (на мышах). Причем, особо хотелось бы подчеркнуть, что *in-vivo* эксперименты являются завершённым циклом доклинических испытаний терафтала совместно с Российским онкологическим научным центром им. Н.Н. Блохина РАН. Был исследован механизм потери жизнеспособности бактериальных клеток с использованием сравнительного анализа электронных микрофотографий исследованных образцов. Установлено, что потеря жизнеспособности бактерий вызвана разрушением мембранных структур за счет активизации кавитационных процессов в местах локализации кальциевой соли терафтала, осажденной на поверхности бактерий. В *in-vivo* экспериментах показано, что совместное действие ультразвука и гидроксиапатита (или терафтала) приводит к выраженному торможению роста опухоли, величина которого зависит от временного интервала между введением наночастиц и ультразвуковым воздействием. Эта часть работы выглядит красиво, так как является логическим завершением проведенных в диссертации исследований и доказательством правильности постановки задачи и осуществленной стратегии ее реализации.

Наконец, последний подраздел третьей главы диссертации посвящен разработке модели фазообразования в гидрогелях. В работе была предпринята попытка создания простейшей модели, определяющей связи между концентрациями и диффузионными параметрами реагентов, а также кинетическими параметрами фазообразования с массой, локализацией и распределением по размерам образующихся в результате реакции кристаллов. Эта часть работы очень ценна с точки зрения понимания природы протекающих процессов, сокращения числа экспериментов и проверки адекватности выводов.

Замечания и рекомендации по работе:

- 1) В работе представлена кинетическая модель фазообразования, но не приведено экспериментального подтверждения полученным результатам. Была ли проделана эта работа и если нет, то необходимо тестировать модель на реальных объектах.
- 2) Было бы желательно получить закономерности температурных и кавитационных эффектов от размера и плотности частиц модификатора.
- 3) В работе имеется ряд опечаток: страницы 45, 61, 69 и т.д. и рисунков без обозначения осей.

Тем не менее, оценивая работу Гопина А. В. «Преобразование и концентрирование акустической энергии на искусственно созданных неоднородностях в гидрогелевых средах» в целом, следует подчеркнуть, что она является завершённым научным исследованием, выполненным автором лично. Работа проведена на высоком экспериментальном и теоретическом уровне. Основное содержание диссертации полно изложено и опубликовано автором в журналах. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации. Результаты работы могут быть использованы при создании соносенсибилизаторов для лечения опухолей различной природы и применены в таких организациях, как Российском онкологическом научном центре им. Н.Н. Блохина РАН, в Институте физиологически активных веществ РАН, Институте химических проблем РАН, Институте химической физики РАН, Институте биомедицинской химии РАН, Московском научно-исследовательском онкологическом институте имени П. А. Герцена, ФГБУН «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН», Институте биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ФГБУ «Гематологический научный центр».

Название и содержание научно-квалификационной работы Гопина А.В. «Преобразование и концентрирование акустической энергии на искусственно созданных неоднородностях в гидрогелевых средах» соответствует специальности 02.00.04 – «Физическая химия» по областям исследования: п. 5: «Изучение физико-химических свойств систем при воздействии внешних полей, а также в экстремальных условиях высоких температур и давлений», п. 7. в части «Макрокинетика, механизмы сложных химических процессов, физико-химическая гидродинамика, растворение и кристаллизация». По актуальности, научному уровню проведённых исследований, новизне и значимости полученных результатов, личному вкладу автора диссертация полностью соответствует критериям, установленным п. 9–14. Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в последней редакции

2016 года), а ее автор, Гопин А.В., заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – «Физическая химия».

Работа обсуждена на семинаре «Физическая химия растворов и флюидов» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской Академии Наук (ИХР РАН) протокол № 3 от 02.03.2017.

Заведующий лабораторией «Физическая химия лекарственных соединений»  
д.х.н., профессор

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской Академии Наук (ИХР РАН)  
ул. Академическая, д.1, г. Иваново, 153045

Тел: 8-960-505-6224  
E-mail: [germanper@yandex.ru](mailto:germanper@yandex.ru)

Ведущий научный сотрудник лаборатории «Физическая химия лекарственных соединений»  
д.х.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской Академии Наук (ИХР РАН)  
ул. Академическая, д.1, г. Иваново, 153045

Тел: 8-910-984-1094  
E-mail: [ivt@isc-ras.ru](mailto:ivt@isc-ras.ru)

02.03.2017

Подписи Перловича Г.Л. и Тереховой И.В. заверяю  
Ученый секретарь ИХР РАН, к.х.н.



Перлович Герман Леонидович



Терехова Ирина Владимировна



Иванов Константин Викторович