

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по науке и инновациям
Федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего
образования «Национальный
исследовательский Нижегородский
государственный университет
им. Н.И. Лобачевского»

И.ф.-м.н. Грязнов М.Ю.
«30» мая 2025 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения
высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский
государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

на диссертационную работу

Привар Юлии Олеговны

**«Криогели хитозана, сшитые диглицидиловыми эфирами: получение,
свойства, применение»,**

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по
специальности 1.4.4. Физическая химия (химические науки)

Диссертационная работа Привар Ю.О. посвящена изучению взаимодействия диглицидиловых эфиров с природным биополимером хитозаном в кислых следах, эффективности применения криогелей модифицированного хитозана в качестве сорбентов и носителей катализаторов, исследованию их цитотоксичности и биосовместимости.

Актуальность работы. В последние десятилетия наблюдается активное развитие исследований, посвящённых созданию гидрогелей, на основе которых разрабатываются материалы с различными физическими свойствами. Ковалентное сшивание полимеров в их водных растворах с использованием бифункциональных реагентов способствует образованию непрерывной сетки геля, которая обладает прочностью и одновременно обеспечивает свободную диффузию воды. Уникальные характеристики гидрогелей открывают возможности для разработки новых сорбционных материалов, а также материалов для биотехнологических (например, для культивирования клеток) и биомедицинских (в сфере тканевой инженерии) применений.

Перспективным полимером для получения криогелей является биосовместимый, биоразлагаемый природный полисахарид хитозан, который обладает собственной биологической активностью и содержит сорбционноактивные и реакционноспособные аминогруппы. Однако без использования сшивающих реагентов получить пористые криогели хитозана не представляется возможным. Наиболее часто используемым сшивающим агентом в этом отношении является глутаровый альдегид, однако материалы, сшитые им, обладают токсичностью, хрупкостью, нестабильностью во времени. Таким образом, встает актуальная задача поиска альтернативных сшивающих агентов. Диссертационная работа Привар Ю.О. является первым успешным примером использования диглицидиловых эфиров для сшивки хитозана в кислых средах в частично замороженных растворах. В связи с вышеизложенным, **актуальность работы, научная новизна и практическая значимость** сомнений не вызывают.

Содержание диссертации. Диссертация Привар Ю.О. изложена на 134 страницах, содержит 35 рисунков, 4 таблицы, 5 схем, 2 приложения, список литературы с 201 ссылкой, включая 5 публикаций автора по теме диссертации. Отметим качество рисунков, которые способствуют пониманию материала неподготовленному читателю. Диссертация построена согласно классическому канону: содержит введение, литературный обзор, обсуждение результатов в виде трех глав, список литературы и приложения. Важно отметить высокий уровень обсуждения, четкость изложения материала и интерпретации полученных результатов.

Цели и задачи работы. Цель диссертационной работы заключалась в разработке способа получения криогелей хитозана с настраиваемыми функциональными свойствами с использованием диглицидиловых эфиров в качестве сшивающих реагентов.

В ходе исследования решались следующие задачи:

- всестороннее изучение взаимодействия диглицидиловых эфиров различной природы с хитозаном в кислой среде, установление корреляции между условиями сшивки хитозана эфирами в частично замороженных растворах, морфологией и свойствами полученных криогелей;
- исследование возможности использования криогелей хитозана, сшитых диглицидиловыми эфирами, в качестве сорбентов и носителей катализаторов;
- исследование цитотоксичности и биосовместимости криогелей хитозана, сшитых диглицидиловыми эфирами, возможности их применения для 3D культивирования клеток.

Применение диглицидиловых эфиров как сшивающих реагентов открывает новые горизонты в настройке структуры криогелей, позволяя изменять их механические, адсорбционные и каталитические свойства в

зависимости от требований конкретного применения. Поставленные в работе задачи выполнены в полном объеме.

Научная новизна диссертационной работы Привар Ю.О. заключается в следующем:

1. Всесторонне изучены процессы гелеобразования в кислых растворах хитозана в присутствии диглицидиловых эфиров различной природы. Показано, что снижение эффективности сшивки хитозана эфирами в уксуснокислых растворах обусловлено побочными реакциями образования сложного эфира уксусной кислоты.
2. Разработан эффективный способ получения криогелей хитозана, сшитых диглицидиловыми эфирами. Показано, что криогели хитозана могут быть получены даже при низкой концентрации эфира в композиции. Использование диглицидиловых эфиров в качестве сшивающих агентов сопровождается более низкой скоростью сшивки по сравнению с глутаровым альдегидом, что приводит к формированию криогелей с большим размером пор и более высокой проницаемостью.
3. Впервые установлены ранее неизвестные корреляции между условиями ковалентной сшивки хитозана в частично замороженных растворах, морфологией и свойствами криогелей хитозана. Показано, что проницаемость, набухание, механические свойства и устойчивость к ферментативному гидролизу криогелей хитозана можно настраивать, изменяя длину цепи эфиров и степень сшивки. Обоснованы критерии выбора диглицидилового эфира и степени сшивки для получения эффективных монолитных сорбентов и носителей катализаторов.
4. Впервые показано, что морфология клеточных агрегатов, формирующихся при 3D-культивировании в криогелях на основе хитозана, сшитых диглицидиловыми эфирами с различной длиной цепи, подвержена значительному влиянию состава криогелей. Это имеет важное значение для разработки более эффективных систем 3D-культуры клеток, которые могут быть применены в регенеративной медицине и тканевой инженерии.

Основным результатом диссертационной работы стала разработка способа получения криогелей хитозана с настраиваемыми функциональными свойствами с использованием диглицидиловых эфиров в качестве сшивающих реагентов. Достоверность полученных результатов подтверждается использованием большого набора современных физических и физико-химических методов исследования, выбор которых для решения поставленных в работе задач корректен.

В качестве наиболее значимых достижений данной диссертационной работы можно указать **следующие результаты**:

1. Впервые изучены процессы гелеобразования в солянокислых и уксуснокислых растворах хитозана в присутствии диглицидиловых эфиров. Показано, что время гелеобразования существенно снижается при $pH > 4.5$, что связано со взаимодействием эпоксидных групп с

ацетат-ионами. Впервые доказана возможность использования диглицидиловых эфиров для сшивки хитозана в частично замороженных растворах с получением криогелей с регулируемой пористой структурой и свойствами.

2. Установлено, что общая степень набухания, проницаемость и эластичность криогелей хитозана, сшитых диглицидиловыми эфирами, повышаются с понижением степени сшивки. Показано, что удельная потенциальная энергия деформации, нагрузка при деформации и величина гистерезиса в цикле одноосного сжатия снижаются с увеличением длины цепи эфира и уменьшением степени сшивки криогелей. Выявлено, что наиболее чувствительным к условиям сшивки параметром является устойчивость криогелей к ферментативной деградации.
3. Найдены оптимальные соотношения проницаемости, механических и сорбционных свойств для применения криогелей в монолитных сорбционных колонках. Оно достигается при сшивке хитозана диглицидиловым эфиром этиленгликоля при четырехкратном мольном избытке хитозана. Полная статическая сорбционная емкость такого криогеля по отношению к красителю ализариновому красному составила 803 мг/г, эффективная динамическая сорбционная емкость – 280 мг/г.
4. Принцип, учитывающий механические свойства и проницаемость криогеля в зависимости от состава, был применен и для выбора криогелей хитозана в качестве носителя катализатора. Показано, что скорость реакции каталитического восстановления нитрофенола на криогелях хитозана с нанесенными наночастицами палладия снижается с повышением молярной массы диглицидилового эфира, что коррелирует с увеличением степени набухания полимерной фазы и снижением проницаемости криогелей.
5. Впервые установлено, что криогели, полученные на основе хитозана и сшитые диглицидиловыми эфирами, обладают высокой цитосовместимостью, что делает их подходящими для длительного 3D-культивирования клеток человека. Биосовместимость криогеля хитозана, сшитого диглицидиловым эфиром этиленгликоля, была доказана *in vivo* на экспериментальных животных.

Хочется отметить раздел по возможному практическому применению результатов работы, где в каждом случае автор показывает глубокое знание и понимание требований к испытываемым материалам. Несомненная **практическая значимость** диссертационной работы заключается в разработке способа получения новых широкопористых высокоэластичных материалов на основе хитозана для применения в клеточных технологиях и тканевой инженерии, сорбции и катализе, по результатам работы получен патент РФ.

Выводы диссертации объективны и соответствуют полученным результатам.

Работа не содержит серьезных недостатков, отметим лишь незначительные **замечания и вопросы**:

1. Опыты по оценке бисовместимости композиций *in vitro* целесообразнее было бы проводить на культуре клеток здоровых тканей, а не опухолевых, когда в последнем случае может быть конкуренция процессов гибели клеток и их активного роста.
2. Автор аргументировано обосновывает негативные результаты по образованию сшитых структур с использованием диглицидиловых эфиров в уксуснокислых растворах хитозана, и кажется излишним слишком подробное исследование этих процессов в данной работе.
3. О каком мольном соотношении ДЭ-ХТЗ идет речь, исходя из молекулярной массы хитозана или звеньев в его молекуле? (это значимо, так как реакция идет по функциональным группам хитозана).
4. Имеются замечания по неудачным формулировкам (несколько примеров).

Стр. 61. «Несмотря на то, что при $pH = 5$ гелеобразование протекало заметно более эффективно в солянокислом растворе ДЭЭГ:ХТЗ 1:1, его реологическое поведение при $pH = 3.5$ через 24 часа всё ещё было типичным для раствора полимера».

Стр. 66. «Несмотря на то, что при комнатной температуре время гелеобразование в солянокислых растворах при соотношении ДЭ:ХТЗ 1:20 увеличивалось до 37-40 ч, полученные криогели хорошо сохраняли форму после извлечения из шприцов без увеличения времени сшивки.»

Стр. 72. «Если реакция сшивки хитозана проходит по аминогруппам, то эквимольное соотношение ДЭ:ХТЗ в реакционной смеси соответствует двухкратному избытку сшивающего реагента».

Стр. 88-89. «При увеличении концентрации сшивающего реагента в 20 раз скорость деградации полученного криогеля снизилось в 612 раз, что делает устойчивость к ферментативному гидролизу параметром, наиболее чувствительным среди оцениваемых параметров к условиям получения криогеля хитозана».

Стр. 91. «Так объем сорбента ДЭЭГ:ХТЗ 1:20 с максимальной сорбционной емкостью уменьшался на 53% при величине сорбции 387 мг». Относительно чего?

Высказанные замечания носят частный характер и не снижают значимости рецензируемой диссертационной работы Привар Ю.О., которая является законченным исследованием и вносит большой вклад в развитие знаний в области разработки новых материалов с заданными свойствами.

Результаты диссертации изложены в 5 международных публикациях реферативных баз данных Scopus и Web of Science в изданиях, рекомендованных ВАК. Публикации отражают основные результаты

диссертационной работы. Результаты работы представлены на пяти конференциях.

Считаю, что с результатами диссертационной работы Привар Ю.О. следует ознакомить специалистов профильных институтов и научных групп, объектом исследований которых являются материалы на основе хитозана.

Заключение. Диссертационная работа Привар Ю.О. является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача по разработке материалов на основе хитозана для применения в качестве сорбентов, носителей катализаторов, скаффолдов для культивирования клеток и регенерации тканей. Диссертация по своему содержанию, актуальности, научной новизне и полученным результатам соответствует требованиям, установленным в пп. 9-14 Постановления Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 «О порядке присуждения учёных степеней» (с изменениями, внесёнными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 года № 335), предъявляемым к диссертации на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия (химические науки), а ее автор, Привар Юлия Олеговна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук.

Диссертационная работа Привар Ю.О. обсуждена на расширенном заседании кафедры высокомолекулярных соединений и коллоидной химии химического факультета ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (протокол заседания № 9 от 14 мая 2025 г.).

Профессор кафедры высокомолекулярных соединений и коллоидной химии химического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им.Н.И.Лобачевского»,

доктор химических наук, профессор, научная специальность 02.00.06

603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, корп. 5

Тел. (831)4623235

E-mail smirnova_la@mail.ru

Смирнова Лариса Александровна

«29» мая

2025 г.