

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Соломахи Ольги Александровны
«Модификация частиц целлюлозы и производных графена полианионами для получения
остеопластических материалов на основе биodeградируемых полиэфиrow»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения

Актуальность диссертационного исследования

Диссертационная работа Соломахи О.А. посвящена решению актуальной междисциплинарной проблемы, находящейся на стыке химии высокомолекулярных соединений, материаловедения и регенеративной медицины - разработке новых биodeградируемых полимерных композиционных материалов для замещения костных дефектов. Ежегодно в мире регистрируются миллионы случаев травм, опухолевых поражений и дегенеративных заболеваний костной ткани, требующих хирургического вмешательства. Традиционные подходы к остеопластике - использование ауто-, алло- и ксенотрансплантатов, а также металлических и керамических имплантатов - обладают принципиальными ограничениями: дефицит донорского материала, риск иммунного отторжения, несоответствие механических свойств, артефакты при МРТ и вторичная резорбция кости. Эти недостатки обуславливают высокую потребность в синтетических биodeградируемых материалах, которые временно выполняют несущую функцию и постепенно замещаются собственной костной тканью.

Алифатические сложные полиэфиры - поли(ϵ -капролактон) (ПКЛ) и поли(L-лактид) (ПЛЛА) - являются одними из наиболее перспективных биodeградируемых полимеров, однако их использование в чистом виде ограничено гидрофобностью, недостаточной механической прочностью и отсутствием остеоиндуктивных свойств. Ключевая научная задача состоит в создании композиционных материалов, в которых полимерная матрица армируется и функционализуется наполнителями. В работе в качестве наполнителей выбраны нанокристаллическая целлюлоза (НКЦ) и производные графена (оксид графена - ОГ, аминированный графен - АГ), которые модифицируются полианионами - поли(глутаминовой кислотой) (ПГлу) и гепарином. Выбор полианионов не случаен: ПГлу является кальций-связывающим агентом и способствует биоминерализации, а гепарин участвует в связывании и стабилизации костных морфогенетических белков. Новшеством является использование амфифильных производных этих полианионов для улучшения совместимости наполнителя с гидрофобной матрицей и придания материалу биоактивности. Разработанные композиты термостабильны (температуры деградации превышают 200°C) и пригодны для переработки экструзионными методом 3D-печати, что открывает путь к созданию

персонализированных имплантатов. На момент выполнения работы в литературе отсутствовали систематические исследования по химической модификации НКЦ, ОГ и АГ именно полианионами, сравнительному анализу методов прививки «от поверхности» и «на поверхности» для производных графена, а также комплексные *in vivo* исследования 3D-печатных матриц на основе ПКЛ/модифицированной НКЦ с адгезированными мезенхимальными стволовыми клетками.

Структура диссертации

Диссертационная работа построена по традиционному для кандидатских диссертаций по химическим наукам принципу и имеет логичную, хорошо продуманную структуру, полностью соответствующую цели и задачам исследования. Работа состоит из введения, трех глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение), выводов, списка литературы и раздела с благодарностями. Общий объем диссертации составляет солидных 174 страницы, работа содержит 20 таблиц и 70 рисунков, что отражает значительный объем экспериментальных данных и наглядность их представления.

Литературный обзор

Литературный обзор представляет собой комплексный анализ современных достижений в области разработки полимерных материалов для регенерации костной ткани. Автор не ограничивается простым перечислением литературных данных, а осуществил приличную аналитическую обработку и систематизацию довольно обширного массива источников (387 наименований). Обзор логично структурирован: последовательно рассмотрены методы получения трехмерных матриц (от классических до аддитивных технологий), свойства и недостатки природных и синтетических биodeградируемых полимеров. Особое внимание уделено характеристикам и методам модификации ключевых наполнителей - НКЦ и производных графена, подробно разобраны различные стратегии химической модификации. Автор обоснованно отмечает, что практически отсутствуют исследования по функционализации этих наполнителей полианионами с целью придания композитам остеокондуктивных свойств. Завершается обзор четким обоснованием выбора объектов исследования, что служит прочным фундаментом для формулировки цели и задач собственного исследования.

Экспериментальная часть

Экспериментальная часть выполнена с применением комплекса современных физико-химических и биологических методов, что обеспечивает высокую достоверность и воспроизводимость результатов. Автором последовательно реализована многоуровневая методология, включающая синтез полиэфиров, получение амфифильных производных

поли(глутаминовой кислоты) и модификацию гепарина. При модификации НКЦ использованы два подхода: силанизация и окисление вицинальных диолов с восстановительным аминированием. Эффективность модификации количественно оценена спектрофотометрически, методами кондуктометрического титрования, элементного анализа, ИК- и ЯМР-спектроскопии, в том числе твердотельной ЯМР-спектроскопии на ядрах ^{13}C . Композиционные пленки и 3D-матрицы охарактеризованы методами микроскопии, их механические свойства изучены в тестах на растяжение и сжатие. Биологические испытания включали МТТ-тест, оценку адгезии и пролиферации клеток, исследование биоминерализации *in vitro* и эксперимент *in vivo* на кроликах. Такой комплексный подход свидетельствует о высоком уровне планирования эксперимента и достоверности полученных выводов.

Глава 3 «Результаты и обсуждение» является центральной частью диссертации и содержит комплексное изложение экспериментальных данных. Автором синтезированы поли(ϵ -капролактон) (M_w 120 000) и поли(L-лактид) (M_w 101 000) полимеризацией с раскрытием цикла, а также амфифильные производные поли(глутаминовой кислоты) (ПГлу) со степенью полимеризации 35 и 56 и содержанием остаточных бензильных групп 10 и 21 мол.%, и модифицированный гепарин (введение 9 мол.% ЭДА и 4 мол.% гексиламина).

Для модификации нанокристаллической целлюлозы использованы два подхода: силанизация АПТЭС с последующей прививкой ПГлу и окисление вицинальных диолов периодатом натрия с восстановительным аминированием полианионов. Количественный анализ показал эффективность прививки до 73% для короткоцепочечной ПГлу35. Для производных графена впервые систематически сравнены методы прививки «на поверхности» (иммобилизация готового полимера, 3 - 6 мг/г) и «от поверхности» (полимеризация N-карбоксихидрида, инициируемая аминогруппами, 5 - 51 мг/г). Последний метод значительно эффективнее, оптимальные условия: линкер – лизин, $[M]/[NH_2]=625$, 72 ч, 55°C.

Композиционные пленки на основе ПКЛ и ПЛЛА с модифицированными наполнителями демонстрируют улучшенное распределение частиц и повышение модуля упругости на 33–58% по сравнению с немодифицированными аналогами. Для ПКЛ оптимальным оказалось содержание 10 масс.% НКЦ-ПГлу35. Методом 3D-печати изготовлены шестигранные матрицы, механические характеристики которых (модуль при сжатии до 60 МПа, прочность до 51 МПа) сопоставимы с параметрами трабекулярной костной ткани.

Биологические испытания показали, что модифицированные наполнители нетоксичны (жизнеспособность клеток $>70\%$ при $0,25$ мг/мл), усиливают адгезию МСК (до 140% от контроля для НКЦ-ПГлу56-Лиз) и стимулируют биоминерализацию. В эксперименте *in vivo* на кроликах скаффолд ПКЛ+10%НКЦ-ПГлу+МСК обеспечил восстановление костного дефекта на 55% через 3 месяца, что значительно превосходит показатели чистого ПКЛ (10%) и литературные аналоги.

Таким образом, в главе 3 убедительно продемонстрирована эффективность предложенной стратегии модификации наполнителей полианионами для создания остеопластических композитов.

Теоретическая значимость

Теоретическая значимость заключается в развитии научных основ химической модификации поверхности наноразмерных наполнителей полианионами. В работе установлены фундаментальные закономерности влияния способа модификации, длины прививаемых полипептидных цепей, содержания остаточных гидрофобных групп, а также типа аминолинкера на эффективность иммобилизации полианионов и распределение наполнителя в гидрофобной матрице. Впервые показано, что полимеризация с раскрытием цикла N-карбоксиянгидрида, инициируемая аминоклуппами поверхности графеновых частиц, обеспечивает более высокую степень прививки по сравнению с иммобилизацией готового полимера. Выявлена корреляция между степенью модификации, гидродинамическим диаметром, ζ -потенциалом и механическими характеристиками композитов. Сформулированы научные представления о роли привитых полианионов в биоминерализации: карбоксильные группы ПГлу и сульфатные/карбоксильные группы гепарина служат центрами связывания ионов кальция. Полученные данные расширяют понимание механизмов остеокондуктивного действия полимерных материалов.

Практическая значимость

Практическая значимость определяется созданием полного цикла разработки остеопластических материалов - от синтеза и модификации наполнителей до изготовления и испытания имплантатов. Разработанные методы модификации позволяют получать биосовместимые наполнители с улучшенной диспергируемостью в гидрофобных полиэфирах, что подтверждено увеличением модуля упругости композиционных пленок на $33 - 58\%$. Модифицированные наполнители термостабильны ($200 - 250^\circ\text{C}$) и пригодны для 3D-печати. Разработанные 3D-матрицы демонстрируют механические характеристики, сопоставимые с параметрами трабекулярной костной ткани человека. Наиболее значимым результатом является успешная апробация 3D-печатных матриц на основе ПКЛ+10%НКЦ-ПГлу в эксперименте *in vivo*: при использовании скаффолда с

адгезированными МСК через 3 месяца достигнуто восстановление костного дефекта на 55%, что превосходит показатели многих известных аналогов. Результаты могут быть использованы для получения остеопластических материалов с заданной архитектурой и osteoconductive свойствами, предназначенных для замещения дефектов костной ткани.

Апробация и публикации

Результаты диссертационного исследования прошли широкую апробацию - представлено 26 докладов на ведущих российских и международных научных конференциях. Важно отметить, что по материалам диссертации опубликовано 6 статей в рецензируемых зарубежных журналах (Polymers, Journal of Renewable Materials, Journal of Biomedical Materials Research, Emergent Materials), индексируемых в Web of Science и Scopus. Автореферат полностью отражает содержание диссертации и оформлен в соответствии с требованиями.

Вопросы и замечания по работе

При общей высокой оценке диссертационного исследования следует высказать ряд вопросов:

1. Получение поли(глутаминовой кислоты) в диоксане продолжается 48 часов. Рассматривалась ли возможность ускорения реакции полимеризации (например, повышением температуры или использованием более активного катализатора)?
2. При модификации НКЦ-АПТЭС полианионами используется активация 30% карбоксильных групп поли(глутаминовой кислоты). Почему был выбран именно этот процент активации? Проводилась ли оптимизация данного параметра?
3. В работе для модификации гепарина и в качестве амиолинкера при модификации оксида графена использовался этилендиамин. На странице 90 отмечено, что введение гидрофобных фрагментов необходимо для улучшения распределения модифицированных гепарином частиц НКЦ в матрице полиэфира. Также на странице 107 указано, что этилендиамин менее эффективен, чем лизин, из-за короткого углеводородного скелета. Почему не был использован алифатический диамин с более длинным углеродным скелетом (например, 1,6-диаминогексан), который одновременно является более гидрофобным?
4. Поскольку на получаемые значения молекулярной массы методом ЭЖХ, как указывает диссертант, влияет конформация макромолекул, предпринималась ли попытка расчёта молекулярной массы модифицированного гепарина с помощью данных ЯМР, как это было сделано для амфифильного производного поли(глутаминовой кислоты)?

5. Чем обусловлены использованные условия модификации ОГ методом «от поверхности» (температура 35–55°C, время 48–72 ч, избыток мономера до 625)? Можно ли было применить большее соотношение $[N-KA]/[-NH_2]$ и более высокую температуру для ускорения процесса?
6. Образование производных ОГ и АГ убедительно подтверждено многими методами. Была ли оценена степень модификации (доля прореагировавших) аминогрупп на поверхности ОГ и АГ?
7. В таблице 12 наблюдается немонотонное изменение модуля Юнга для композита ПКЛ+10%НКЦ (снижение по сравнению с 5% и 15%). Чем вызвано это экстремальное уменьшение модуля именно при 10 масс.% наполнителя?
8. При изготовлении пленок какие меры предпринимались для предотвращения агрегации наполнителей (например, ультразвуковое воздействие, использование диспергаторов)?
9. Плёнки с агрегированными наполнителями изготавливались повторно из смеси хлороформ–ацетонитрил. Почему все композиционные плёнки не изготавливались сразу из этой смеси растворителей, если она улучшает диспергирование?
10. Вывод о потенциальной возможности использования разрабатываемых материалов для экструзионной 3D-печати сделан на основе термической стабильности наполнителей (страница 103). Почему оценка не проводилась по термической стабильности самих композиционных плёнок, содержащих эти наполнители, поскольку между наполнителем и полимерной матрицей возможно протекание процессов, влияющих на термостабильность композита?
11. Условия 3D-печати значительно влияют на комплекс свойств изготавливаемого изделия. Чем были обусловлены выбранные параметры печати (температура, давление, скорость) и анализировалось ли их варьирование на свойства напечатанных матриц?

Указанные вопросы носят дискуссионный характер и не снижают общей положительной оценки работы.

Заключение

Диссертационная работа Соломахи Ольги Александровны «Модификация частиц целлюлозы и производных графена полианионами для получения остеопластических материалов на основе биodeградируемых полиэфигов» является завершённым научно-квалификационным исследованием, содержащим новые научно обоснованные решения в области разработки полимерных материалов для регенеративной медицины. По актуальности, научной новизне, объёму экспериментального материала, достоверности

полученных результатов и практической значимости работа полностью соответствует требованиям пп. 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Автор диссертации, Соломаха Ольга Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

Заместитель директора по научной работе
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Байкальского института
природопользования СО РАН (БИП СО РАН),
Заведующий лабораторией химии
полимеров БИП СО РАН
ул. Сахьяновой, 6, г. Улан-Удэ, 670047
тел.: (301-2)433-423, e-mail: burdvit@mail.ru

Бурдуковский
Виталий
Федорович

Доктор химических наук (02.00.06 Высокомолекулярные соединения)
Доцент по специальности (02.00.06 Высокомолекулярные соединения)

Согласен на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой Соломаха О. А. в диссертационном совете 75.1.082.01, и их дальнейшую обработку.

24.04.2026 г.

Подпись В.Ф. Бурдуковского ЗАВЕРЯЮ

Ученый секретарь
БИП СО РАН, к.х.н.



Пинтаева
Евгения
Цыденовна