

В совет по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 35.2.035.01 на базе ФГБОУ ВО «Вавиловский университет»

410012, г. Саратов, пр-кт им. Петра Столыпина, зд. 4, стр.3

## ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертационную работу Горшуновой Софьи Владимировны на тему: «Новые методы синтеза наночастиц селена и установление их биологической активности», представленную к защите на соискание учёной степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 1.5.6. Биотехнология**

### **Актуальность темы диссертации**

В настоящее время возрастающее количество работ посвящено изучению различных видов биологической активности, токсичности, а также применению как неорганических, так и органических форм селена. Очевидно, такой высокий научный интерес обусловлен тем, что поддержание физиологического уровня содержания селена в организме является жизненно необходимым. По современным представлениям, основная биологическая роль селена заключается в том, что он является кофакторной единицей селенсодержащих ферментов. Следует особо подчеркнуть, что эти ферменты являются одними из основных в функционировании редокс системы клетки и, таким образом, от их активности зависят все основные параметры жизнедеятельности клеток организма.

В литературе широко обсуждаются перспективы использования наночастиц при создании лекарственных препаратов. Учитывая биологические свойства селена и его роль в метаболизме клеток, особый интерес представляет разработка новых методов получения наночастиц для включения в состав лекарственных препаратов. Исследования отечественных и зарубежных учёных по изучению острой токсичности препаратов на основе селена указывают на более низкую токсичность наночастиц селена по сравнению с селенитом натрия.

В то же время данных о биологической активности селена в наноразмерной форме в настоящее время посвящено гораздо меньше исследований, чем изучению органических и неорганических соединений селена.

В этом аспекте, диссертационная работа Горшуновой Софьи Владимировны, посвященная разработке новых методов синтеза наночастиц селена и установлению их биологической активности, представляется своевременным научным откликом на сложившиеся проблемные ситуации, имеет важное научное и практическое значение для сельскохозяйственной науки.

Цель исследования диссертанта состояла в разработке метода синтеза наночастиц селена стабилизированных различными ПАВ и исследования их биологических свойств для дальнейших перспектив использования в сельском хозяйстве, в частности, в качестве адъювантов для вакцин, ростостимулирующих средств для растений и противоопухолевых препаратов. Достижению заявленной цели способствует решение шести сформулированных задач исследования. Поставленные задачи детально проработаны соискателем, что и определило успешное достижение заявленной цели.

#### **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Обоснованность и достоверность полученных выводов, сформулированных предложений и рекомендаций не вызывает сомнений, определяется правильностью постановки и решения задач по выполнению работы, использованием соответствующего методического уровня и оборудования для проведения экспериментов, анализом фактического экспериментального и теоретического материала.

Высказанные автором научные и практические суждения по решению рассматриваемых вопросов аргументированы и вытекают из объема экспериментального и клинического материала.

При выполнении работы автором использовались общепринятые методы научного познания, а также специальные методы: физико-химические, клинические, фармакологические, морфологические, биохимические и другие, с применением современного оборудования. Для анализа результатов исследований применялись статистические и математические методы, позволяющие обеспечить достоверность и объективность полученных данных.

Теоретическая база исследования основана на изучении научных публикаций, связанных с темой диссертационного исследования. Автором использовано 228 наименований, в том числе 222 иностранных научных работ, и приложений, отраженной в соответствующей части диссертационной работы.

Результаты исследования прошли должную апробацию. Они успешно внедрены используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторных занятий со студентами факультета ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий ФГБОУ ВО «Вавиловский университет», основные положения диссертационного исследования отражены в 17 публикациях, из

них 2 статьи в журнале, входящие в международную наукометрическую базу Scopus и Web of Science.

### **Новизна исследований, научных положений, выводов и рекомендаций**

Новизна исследований диссертационной работы основана на достаточном количестве проведенных экспериментальных исследований и наблюдений, реализованных в соответствии с поставленными целью и задачами.

Соискателем впервые разработан новый метод синтеза наночастиц селена из дихлордиацетофенонилселенида размером в 2-4 нм. Исследованы возможности получения наночастиц селена различного размера в зависимости от использования различных поверхностно активных веществ, в частности Кремофора А-25, ТВИН-80, поливинилпирролидона, а также хитозана и сахарозы.

Разработаны методы анализа наночастиц селена с использованием динамического рассеивания света и проведена их корреляция с электронной просвечивающей микроскопией. Установлена острая токсичность, местно-раздражающее действие, онкопротекторные свойства наночастиц активность на примере клеточной линии EPNT-5, наночастиц селена, а также исследована возможность использования наночастиц селена в качестве адъюванта для вакцин в рамках протективной активности на примере вакцины от бешенства. Исследована возможность повышения стрессоустойчивости и всхожести семян.

Научная новизна проведенных исследований подтверждена патентом на изобретение № 276085 от 29.11.2021 г. «Композиция для инъекционного применения на основе фосфотидилхолина, метеонина, витамина Е и селенита натрия – «Гепарс»), обладающая гепатопротекторными свойствами, и способ ее получения».

### **Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы**

Теоретическая значимость работы состоит в том, что в результате проведенных Горшуновой С. В. исследований расширены представления о возможности получения наночастиц селена из селеноорганических соединений со стабилизацией поверхностно активными веществами, определении размера частиц методом просвечивающей электронной микроскопии и динамического рассеивания света.

Практическая значимость работы состоит в показанной возможности использования синтезированных соединений селена в ветеринарии в качестве противоопухолевого препарата, адъюванта для вакцин, восполнения дефицита селена в организме млекопитающих, при болезнях гепатобилиарной системы животных и в растениеводстве – в качестве ростостимулирующего препарата.

### **Соответствие диссертации и автореферата критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней»**

Диссертационная работа и автореферат соискателя Горшуновой С.В. оформлены в соответствии с требованиями ВАК, изложены грамотным и доступным языком, достаточно иллюстрированы таблицами и рисунками. Автореферат отражает основные разделы диссертации и раскрывает её научные положения. Выводы и практические предложения в диссертации и автореферате идентичны. Диссертация и автореферат полностью соответствуют критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней».

### **Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы, репрезентативность эмпирического материала**

Научно-исследовательская работа является результатом исследований автора, выполнена на кафедре «Микробиология и биотехнология» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» (ФГБОУ ВО Вавиловский университет)

Личный вклад соискателя состоит в обсуждении цели и задач исследования, выборе и обосновании методик эксперимента, непосредственном его проведении, анализе и интерпретации полученных результатов, установлении закономерностей и формулировке выводов. Оценка полученных данных с точки зрения правильности планирования и выбранных методов исследования, подтверждает репрезентативность полученных результатов.

### **Содержание диссертации, ее завершенность**

Структурно диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, заключения, выводов, практических предложений, рекомендаций и перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы, приложения. Общий объем диссертации составляет 194 страницы. Работа иллюстрирована 28 таблицами и 85 рисунками.

Во «Введении» диссертантом рассматриваются актуальность темы исследования, степень разработанности темы, приводятся поставленные на решение цель и задачи исследований, показана научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы диссертационного исследования, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, публикации по результатам выполненных исследований.

Глава «Обзор литературы» содержит два подраздела, в которых соискателем проанализированы опубликованные в научной литературе сведения об

основных биологических свойствах селена как микроэлемента, проанализированы известные синтезе наночастиц селена и его терапевтическом применении при бактериальных инфекциях и токсоплазмозе.

Глава «Экспериментальная часть» включает два подраздела. В п.2.1 «Объекты и методы исследований» приведены использованные методики синтеза наночастиц селена, разработки мицеллярного раствора, на основе фосфотидилхолина, метионина, витамина Е и селена, методы фармако-токсикологических исследований полученных образцов препарата, исследования онкопротекторных свойств наночастиц селена размером 2-4 нм стабилизированных поливинилпирролидоном, оценки эффективности наночастиц в антирабической вакцине, ростостимулирующей активности наночастиц селена для семян яровой пшеницы и яровой ржи, статистической обработки результатов исследований.

Раздел «Результаты исследований и их обсуждение» объединяет 9 подразделов, в которых автор раскрывает данные исследований в соответствии поставленными целью и задачами.

В п.п. 2.2.1., 2.2.2 и 2.2.3 изложены результаты серии экспериментов по синтезу селеноорганических соединений в итоге которых был разработан новый метод синтеза наночастиц селена из диацетофенонилселенида и дихлордиацетофенонилселенида.

При исследовании методом Прозоровского острой токсичности наночастиц селена установлена  $LD_{50} = 103,74 \pm 5,86$  мг/кг, а по пробит-анализу методом Финни  $LD_{50} = 103,98 \pm 5,28$  мг/кг (п. 2.2.4). В п. 2.2.5. описаны результаты определения местно-раздражающего действия наночастиц селена из дихлордиацетофенонилселенида стабилизированных поливинилпирролидоном. Выявлено, что в подопытной группе у большего, чем в контроле, числа животных проявилась ответная реакция, однако интенсивность реакции не выше, чем у контрольных животных. (п. 2.2.6.) Автором установлено, что при применении наночастиц селена из дихлордиацетофенонилселенида стабилизированных поливинилпирролидоном вероятность развития опухоли на примере EPNT-5 уменьшается на 80% (п. 2.2.6). Доказано, что включение наночастиц в дозе 0.3 мг/мл в состав антирабической вакцины из штамма «Щелково-51» повышает ее эффективность (п. 2.2.7). Применение разработанного мицеллярного раствора на основе фосфотидилхолина, метионина, витамина Е и селена животным с моделированной патологией гепатобилиарной системы, способствует снижению воспалительной деструктивных процессов в печени и почках и, как следствие, восстановлению их функциональной активности (п. 2.2.8). Иссле-

дование ростостимулирующей активности наночастиц селена показывает увеличение динамики роста семян яровой пшеницы на 91% по отношению к воде и на ~25% яровой ржи по отношению к диацетофенонилселениду (п. 2.2.9).

В главе «Заключение» автор приводит анализ результатов собственных исследований, сопоставляя их с литературными данными, что определяет работу как законченное, самостоятельно выполненное исследование, посвященное актуальной теме и решению научно-практических задач ветеринарной медицины. Семь выводов отражают исследования диссертанта, сформулированы на основании полученных результатов, достаточно аргументированы и объективны.

### **Вопросы, возникшие при рассмотрении диссертации**

Оценивая работу Горшуновой С.В. в целом положительно, хотелось бы в процессе публичной защиты получить разъяснения автора по следующим вопросам:

1. Для коллоидных растворов и порошков наночастиц селена характерен оранжевый (коричневый) цвет. В диссертационной работе представлен синтез наночастиц селена с поливинилпирролидоном, в результате которого полученный образец в растворенном виде представляет собой прозрачную жидкость с бледно жёлтым оттенком. Как подтверждали образование наночастиц именно селена в данном образце? Какова концентрация наночастиц селена в образце?
2. При исследовании острой токсичности наночастиц селена какими ГОСТ-ами, методическими рекомендациями или иными нормативными документами Вы руководствовались (п. 2.1.5, с. 55.)?
3. Уточните результаты определения местно-раздражающего действия наночастиц селена из дихлордиацетофенонилселенида стабилизированных поливинилпирролидоном (п.2.2.5, с. 111).
4. К какому классу опасности в соответствии с действующим ГОСТ относятся полученные наночастицы селена (п. 2.2.4. «Исследование острой токсичности наночастиц селена», с. 111)? Определялись ли параметры субхронической токсичности и кумулятивного действия наночастиц селена из дихлордиацетофенонилселенида стабилизированных поливинилпирролидоном?
5. Установлены ли были статистически достоверные отличия по данным ОАК и биохимического анализа в 4 сравниваемых группах (п. 2.2.6. «Онкопротективные свойства селена из дихлордиацетофенонилселенида стабилизированных поливинилпирролидоном» (табл. 9 с. 121, табл. 14, с. 124)?
6. Поясните заключение: «Достоверных отличий масс мышей между группами животных не отмечалось, тогда как коэффициент массы мышей в 4

группе концентраций лимфоцитов была достоверна выше чем во 2 и 3, 4 группе» (с. 125.)?

7. По результатам проведенного исследования Вы заключаете, что «Применение вакцины Рабикан с наночастицами селена стабилизированными ПВП в концентрации 0,3 мг/мл иммунобиологического препарата животным усиливает протективные свойства антигена на 18% относительно национальной референс-вакцины, откалиброванной по международному стандарту» (с. 143). На чем основано усиление протективных свойств антигена?
8. Вы делаете заключение, что «в ходе изучения гепатопротекторных свойств на модели острого токсического гепатита смертность лабораторных животных за 7 дней эксперимента, составила в 16 группе 50%, во второй и третьей - 10%, в 46 группе (фоновой) признаков 5 интоксикации и гибели животных не отмечалось» (с. 148). Уточните номера групп и механизм гепатопротекторного действия предлагаемого Вами препарата.
9. В качестве практических предложений Вы рекомендуете использовать наночастицы селена стабилизированные поливинилпирролидоном в качестве противоопухолевого препарата, адъюванта для вакцин и восполнения дефицита селена в организме млекопитающих, а композиции на основе селена, фосфотидилхолина, метионина и витамина Е – при болезнях гепатобилиарной системы (с. 167). Проводились ли клинические исследования предлагаемых Вами препаратов на целевых животных?

Указанные выше замечания и вопросы не снижают научной и практической ценности диссертации и не влияют на ее положительную оценку. Они не касаются актуальности и новизны диссертации, ее теоретической и практической значимости, других определяющих критериев качества научной квалификационной работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Горшуновой Софьи Владимировны на тему «Новые методы синтеза наночастиц селена и установление их биологической активности» является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной автором самостоятельно на высоком научном уровне. В работе представлены результаты, имеющие значение в области бионанотехнологии, создании лекарственных форм, комбинированных препаратов и биологически активных препаратов. Таким образом, диссертационная работа «Новые методы синтеза наночастиц селена и установление их биологической активности» учитывая актуальность выполненных исследований, научную новизну и практическую значимость полученных результатов, отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №

842 (в ред. от 18 марта 2023 года № 415) предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Горшунова Софья Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент  
доктор ветеринарных наук  
(03.00.19 – Паразитология),  
профессор, ФГБОУ ВО  
«Ставропольский государственный  
аграрный университет»,  
заведующий кафедрой терапии  
и фармакологии

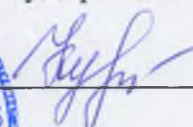
 Оробец Владимир  
Александрович

25 апреля 2024 г.

*Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет», Россия, 355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12. Тел. +7(8652)-28-67-38. E. mail: [orobets@yandex.ru](mailto:orobets@yandex.ru)*

Подпись доктора ветеринарных наук, профессора Оробец В.А. заверяю:  
Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», кандидат экономических наук,  
доцент



 Н.В. Кулиш