

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Крутякова Юрия Андреевича на тему
"Синтез, свойства и агробιοтехнологические применения стабилизированных наночастиц серебра", представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по научной специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность

Современные медицина и агропромышленность сталкивается с необходимостью разработки новых подходов к сбережению здоровья граждан, защите растений и лечению животных сельскохозяйственного назначения. Основная проблема традиционных лекарственных препаратов для медицинского и ветеринарного применения, а также средств защиты растений заключается в снижении их эффективности и развитии резистентности у патогенов к ним. Решение этой проблемы может быть направлено на разработку технологий получения новых веществ, которые бы обеспечивали эффективную защиту различных организмов и соответствовали современным требованиям к безопасности (токсичности) и экологичности. В этом контексте особый интерес привлекают препараты на основе стабилизированных наночастиц металлов, особенно серебра. В отличие от традиционных антибактериальных препаратов, резистентность к наночастицам серебра развивается значительно медленнее и характерна лишь для ограниченного круга микроорганизмов. Кроме того, эти наночастицы демонстрируют многофункциональность биологического действия в отношении различных организмов. Эффективностью и специфичностью биологического действия наночастиц можно «управлять», меняя структуру стабилизаторов, что в свою очередь изменяет их физико-химические параметры: размер, ζ -потенциал, коллоидную стабильность, восстановительный потенциал по отношению к активным формам кислорода.

Для практического внедрения наночастиц серебра в различные сферы и отрасли хозяйства Российской Федерации необходимо создание новых методов синтеза наночастиц, модифицированных специализированными стабилизаторами, разработка комплексных подходов к изучению физико-химических свойств наночастиц, оценка биологической эффективности и безопасности наночастиц серебра на различных уровнях организации живых организмов.

Диссертационная работа Ю.А. Крутякова представляет собой актуальное исследование, в котором предлагается системный подход, включающий все указанные аспекты исследований, что создает фундаментальную и практическую базу для разработки нового поколения средств защиты растений и ветеринарных препаратов, сочетающих высокую эффективность и экологическую безопасность.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Крутякова Юрия Андреевича представляет собой законченное исследование, которое изложено на 355 страницах машинописного текста, иллюстрировано 142 рисунками, 106 таблицами. Работа имеет неклассическое привычное построение, но хорошо структурирована и состоит из Введения и 6 глав, а также включает: Заключение, основные результаты работы, Выводы и Список литературы. Каждая из глав завершается обобщающими выводами, сформированными как на основе литературных данных, так и собственных результатов автора. Список цитируемой литературы содержит 659 источников.

Раздел «Введение» содержит информацию об актуальности исследования, степени разработанности темы, финансовом обеспечении работы, научной новизне, теоретической и практической значимости, личном вкладе автора, структуре работы, а также включает информацию о публикациях по теме исследования и апробации результатов на конференциях различного уровня. Также в разделе «Введение» представлена цель и задачи работы.

Главы 1 и 2 содержат основные итоги работы по синтезу биологически активных дисперсий наночастиц серебра, полученных с применением стабилизаторов различных типов и структуры (катионные, анионные или амфотерные низкомолекулярные ПАВ, катионные и анионные полимеры), а также описаны важнейшие коллоидно-химические характеристики полученных наночастиц. Впервые для получения дисперсий наночастиц серебра предложено использовать новые классы полимерных стабилизаторов – полиалкил(моно/би)гуанидины, амфополикарбоксиглицинат, сульфированный полианилин. Проведена оптимизация методов получения наночастиц в реакции Толленса, в двухфазных системах, а также с использованием боргидридного подхода. Получены композитные частицы $\text{Ag}@\text{AgCl}$ методом фотохимического восстановления. Частицы были стабилизированы амфополикарбоксиглицинатом натрия, обладали высокой коллоидной стабильностью и имели пористое строение.

В Главе 3 описаны результаты исследований по изучению биологической активности стабилизированных наночастиц серебра в отношении прокариотических, эукариотических клеточных организмов (бактерии, дрожжи, водоросли, грибы). Показано, что наночастицы оказывают действие за счет ионов Ag^+ , выделяющихся с их поверхности в ходе окислительного растворения. Установлено, что наночастицы серебра, стабилизированные амфополикарбоксиглицинатом натрия, являются более универсальными фунгицидными агентами, чем известные коммерческие фунгициды (например, при таких болезнях растений как ризоктониоз, фитофтороз и др.). Используя

широкий набор наночастиц, модифицированных различными стабилизаторами, были определены кинетические характеристики окисления наносеребра пероксидом водорода и выявлена корреляция между скоростью окислительного растворения и биологической активностью. Были предложены дескрипторы для алгоритмов теоретической оценки биологических свойств наночастиц, показана применимость дескрипторов для МЛР-моделей. Полученные экспериментальные данные расширили понимание механизмов, обеспечивающих антибактериальную активность наночастиц серебра, и открыли возможности для широкого практического применения этих наночастиц в составе препаратов для лечения инфекций в ветеринарии и медицине, а также в качестве альтернативы традиционным фунгицидам.

Глава 4 содержит информацию биологическом действии наночастиц серебра на активность ключевых ферментов растений, которые связаны с выработкой эффективного ответа на фитопатогены или симбиотические микроорганизмы. При попадании в ткани растения наночастицы серебра запускают ряд внутриклеточных изменений: повышают концентрацию активных форм кислорода, стимулируют метаболизм клеток, активируют механизмы защиты от тяжелых металлов и регулируют уровень фитогормонов. Эти процессы зависят от вида растения, дозировки и способа введения наночастиц, а также химического состава стабилизатора и могут приводить как к позитивному влиянию на рост и урожайность растений, так и к негативным эффектам.

В Главе 5 установлен профиль безопасности наночастиц серебра, поскольку литературные данные об их токсичности противоречивы. Исследования *in vivo* проводились на различных организмах (крысы, кролики, морские свинки, перепела, пчелы и т.д.) с использованием стандартизированных тестов. Было показано, что изучаемые наночастицы серебра не оказывают значительного токсического эффекта при разовом приеме в дозе до 4 мг/кг массы тела животного и при многократном применении в дозе до 0,45 мг/кг/день. Предполагается, что наночастицы влияют на микробиоту кишечника, могут проникать в стенку кишки, лимфоидную ткань и кровь, а затем метаболизироваться и выводиться органами выделения. Токсическое действие наночастиц связано с несколькими механизмами, и для полного понимания необходимы дополнительные исследования.

В Главе 6 автор приводит исчерпывающую информацию о внедрении зарегистрированных препаратов наночастиц серебра в агропромышленном секторе. Проведенные исследования показывают высокую эффективность действия в отношении широкого круга грибных и бактериальных патогенов овощных культур. Аргумистин — лекарственный препарат, содержащий коллоидное серебро и бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммоний хлорид зарегистрирован Россельхознадзором в 2019 г. для ветеринарного

применения и одобрен для терапии кошек, собак и крупного рогатого скота при воспалительных заболеваниях кожи и слизистых оболочек (эндометрит, мастит, конъюнктивит, дерматозы и прочие инфекции).

В разделе «Заключение» Юрий Андреевич обобщает полученные результаты с представлением наиболее значимых из них.

Таким образом, проведя анализ диссертационной работы, можно утверждать, что исследование построено на собственной и достаточной базе полученных экспериментальных результатов, а степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в работе, обеспечивается теоретической базой, представленной научными трудами отечественных и зарубежных ученых. В совокупности это позволяет сделать вывод об обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе.

Достоверность результатов проведённых исследований

Полученные Крутяковым Юрием Андреевичем результаты характеризуются высокой надежностью ввиду достаточного количества использованного в работе экспериментального материала, информативных методик и современного оборудования. Методические подходы, используемые автором в работе, характеризуются современностью и соотносятся с поставленными задачами. Физико-химические свойства стабилизированных наночастиц серебра оценивались методами электронной микроскопии, светорассеяния, фотоэлектронной спектроскопии, XAFS-анализа и спектроскопии УФ, видимого и ИК диапазона. Антимикробную активность проверяли стандартными тестами с жидкими и твердыми питательными средами вручную или автоматически. Токсикологию исследовали согласно протоколам OECD, GLP и ISO 17025. Безопасность и эффективность дисперсий НЧ серебра для высших растений подтверждали официальными методами государственного ведомства страны испытаний.

Результаты диссертационной работы представлялись на российских и международных конференциях и опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых международными базами данных Web of Science/Scopus, и имеющих независимую международную экспертизу.

Научная новизна

В диссертационной работе Крутякова Юрия Андреевича представлены результаты исследований по разработке научно-обоснованных методов синтеза и изучения биологических свойств наночастиц серебра в отношении микроорганизмов, высших растений, животных. Разработаны способы получения стабильных дисперсий наночастиц серебра с контролируемыми

характеристиками, с использованием новых классов стабилизаторов полимерной природы. Предложены новые методы синтеза наночастиц и нанокомпозитов Ag@AgCl путем фотохимического восстановления. Установлена высокая антимикробная активность дисперсий НЧ серебра в отношении широкого спектра микроорганизмов. Впервые выявлены корреляции между коллоидно-химическими характеристиками наночастиц и их биологической активностью, которые послужили основой для создания моделей «наноструктура-свойство». Показано положительное влияние малых доз наночастиц серебра на индуцированную устойчивость растений.

Таким образом, описанные в диссертационной работеходы и методологии обладают достаточной новизной и уникальностью для использования в области биохимии, биотехнологии и агрохимии.

Практическая и теоретическая значимость

Теоретическая значимость диссертационной работы Крутякова Юрия Андреевича связана с созданием научных основ получения дисперсных систем на основе серебра, поверхность которых модифицирована молекулами различных классов и строения, изучения их биологических свойств и установлением связи структура-свойство, что закладывает фундаментальную базу для проведения дальнейших комплексных исследований в области создания новых классов средств защиты растений и ветеринарных препаратов.

Практическая значимость работы отражена в 11 патентах на изобретение различных стран и связана:

- с проведением успешных производственных испытаний препаратов на основных сельхозкультурах,
- с регистрацией 2 регуляторов роста растений, 1 фунгицида и 2 агрохимикатов в России и 20 государствах, содержащих коллоидные частицы серебра с разными стабилизирующими агентами,
- с серийным производством препаратов на основе коллоидного серебра,
- с успешными клиническими испытаниями, регистрацией препарата на основе коллоидного серебра, стабилизированного бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]-аммоний хлоридом и его внедрением в ветеринарную практику.

Замечания и вопросы

Работа выполнена на высокой теоретическом и экспериментальном уровнях, однако при ознакомлении с ней возник ряд вопросов и замечаний, перечисленных ниже:

1. Структура изложения диссертации отличается от классического варианта. Каждая глава, а иногда и раздел, содержат литературную часть и описание эксперимента, что приводит к многократным смысловым и фактическим повторам. Например, тезис о резистентности встречается в каждом разделе, хотя мог бы быть указан один раз в расширенном обосновании актуальности работы; описание физико-химических методов исследований наночастиц так же повторяется в каждом разделе главы 1, хотя могло бы иметь общее изложение.

2. При обсуждении механизма действия наночастиц серебра в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий основные акценты сделаны на действие ионов Ag^+ и возможное аддитивное действие стабилизатора. Учитывалось ли в этом механизме воздействие активных форм кислорода, которое активно исследовалось позже на модели *S. cerevisiae*?

3. В работе верифицировались дескрипторы для создания прогностических моделей «структура-свойство». В качестве дескрипторов были выбраны: диаметр наночастиц, поверхностный заряд, удельная площадь поверхности и др., а их числовые значения брались из результатов экспериментов. Были ли валидированы методики получения наночастиц и определения их физико-химических параметров для получения воспроизводимых результатов (особенно когда различия в размерах частиц составляет несколько нм)? Учитывает ли прогностическая модель поведение наночастиц в биологических жидкостях?

4. Методы получения наночастиц серебра не содержат описания их выделения или очистки, а также контроля остаточных примесей компонентов реакций и стабилизаторов. Поскольку сами стабилизаторы обладают собственной биологической активностью, то насколько результаты проведенных биологических исследований отражают действие только самих частиц?

Несмотря на перечисленные замечания и вопросы, которые в основном носят редакторский и/или дискуссионный характер, их наличие не снижает общее высокое впечатление о представленной диссертации и ее научной ценности.

Заключение

Диссертация Крутякова Юрия Андреевича "Синтез, свойства и агробιοтехнологические применения стабилизированных наночастиц серебра" по актуальности затронутых вопросов, научной новизне и практической значимости отвечает требованиям, установленным в п.п. 2.1-2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», предъявляемым к докторским диссертациям, поскольку является научно-квалификационной работой, в которой на основании

выполненных автором исследований изложены новые решения по разработке методов и технологий синтеза наночастиц серебра, функционализированных молекулами различной природы, изучению их биологической активности, а также решена проблема, связанная с созданием инновационных препаратов стабилизированного коллоидного серебра, имеющих важное практическое внедрение в агропромышленном комплексе Российской Федерации, а ее автор Крутяков Юрий Андреевич заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по научной специальности 1.5.6. Биотехнология.

Ф.И.О. составителя: Маслов Михаил Александрович;

Специальность: 02.00.10 – Биоорганическая химия;

Почтовый адрес: 119571, г. Москва, проспект Вернадского, д.86, кабинет Р-107;

Телефон: +7 (499) 600-80-80, доб. 31202;

Адрес электронной почты: maslov_m@mirea.ru;

Наименование организации: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "МИРЭА – Российский технологический университет" (РТУ МИРЭА), <https://www.mirea.ru/>;

Должность: директор Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова, доктор химических наук, доцент.

Директор
института тонких химических
технологий имени М.В. Ломоносова

М.А. Маслов

Подпись М.А. Маслова заверяю

Проректор



О.В. Винокуров

28 апреля 2025 г.