



## ОТЗЫВ

### ведущей организации на диссертацию Пхйю Мьинт У «Реакционная способность экстрактов донника, муррай и некоторых кумаринов в их составе», представляемую на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия

Диссертация посвящена изучению влияния экстрактов растений, содержащих различные виды кумаринов, и индивидуальных кумаринов на процессы образования радиационно-индуцированных свободных радикалов.

Кумарины – это широко известный класс растительных полифенолов. Неослабевающий в последние десятилетия научный интерес к кумаринам связан с непрерывно расширяющимся спектром их фармакологической активности. Как показали исследования последних лет, в основе широкого разнообразия фармакологических эффектов кумаринов может лежать их вмешательство в свободнорадикальные процессы, развивающиеся в биосистемах при различных видах патологий. В связи с этим, пристальное внимание в последнее время уделяется антирадикальной и антиокислительной активности кумаринов. В центре этих исследований часто лежит процесс кислородзависимого свободнорадикального пероксидного окисления липидов.

Действие радиации рассматривается в более широком контексте свободнорадикальной гомолитической фрагментации гидроксилсодержащих биосубстратов, таких как углеводы, аминокислоты, белки и нуклеиновые кислоты. Ключевую роль в этих процессах играют радикалы, возникающие в результате гомолитического отрыва атома водорода от  $\alpha$ -углеродного атома соответствующих структур –  $\alpha$ -гидроксил содержащие углерод-центрированные радикалы, простейшим представителем которых является  $\alpha$ -гидроксиэтильный радикал, основной радикальный продукт, образующийся при радиолизе этанола. Процесс радиолиза этанольных и водно-этанольных растворов можно рассматривать в качестве адекватной химической модели, позволяющей исследовать реакционную способность и механизм действия потенциальных модуляторов свободнорадикальных процессов в организме.

В связи с этим предпринятое в рассматриваемой диссертационной работе объемное и разноплановое исследование реакционной способности кумаринсодержащих водно-этанольных экстрактов растений и индивидуальных кумаринов с акцентом на их антирадикальную активность, несомненно, лежит в русле современных подходов к изучению физико-химических основ биологической активности и является, таким образом, актуальным.

Диссертация построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, полученных результатов и их обсуждения, выводов, списка литературы и приложения.

В диссертационной работе исследованы экстракты растительного сырья донника лекарственного (*Melilotus officinalis*), багульника болотного (*Ledum palustre*) и муррай метельчатой (*Murraya paniculata*). Выбранные виды относятся к семействам, которые известны высоким содержанием кумаринов (бобовые, вересковые, рутовые). Кроме того, исследуются индивидуальные синтетические формы кумаринов: исходный кумарин, дигидропроизводное по связи C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>, дигидрокумарин, моногидроксипроизводное –

умбеллиферон, дигидроксипроизводное – эскулетин и его моногликозид – эскулин, метоксипроизводное – скополетин.

Работу предваряют спектрофотометрические исследования экстрактов, которые позволили оценить экстрагирующую способность различных растворителей и качественно охарактеризовать полученные экстракты по составу. Были выявлены в целом типичные для растительных экстрактов две полосы поглощения, которые обычно относят к простым фенолам (коротковолновая полоса) и к флавоноидам и полифенолам, включая кумарины (более 300 нм). В целом, эти данные показали хорошую эффективность применяемых методик экстрагирования, а также стабильность полученных экстрактов во времени. Важным результатом этой части работы стала оценка радиочувствительности полученных экстрактов, позволившая предварительно установить примерную границу в 2 кГр, до которой не наблюдается явных изменений в оптических спектрах экстрактов. Последовавшая далее оценка радиочувствительности более специфичными методами в целом согласуются с этой предварительной оценкой.

В проводимых в работе исследованиях реакционной способности экстрактов и индивидуальных соединений изначально был поставлен акцент на изучение антирадикальной активности, что характеризует ее направленность на получение практически значимых результатов. С этой целью были использованы зарекомендовавшие себя ранее подходы для анализа антирадикальной активности: восстановительная способность системы в отношении стабильного радикала дифенилпикрилгидразила (ДФПГ) и известная специфичная ловушка супероксидного анион радикала – нитросиний тетразолий (НСТ). Кроме того, автор обоснованно предложил использовать для анализа антирадикальной активности в отношении углеродцентрированного радикала этанола ( $\alpha$ -ГЭР) определение концентрации образующегося из него в ходе реакции диспропорционирования молекулярного продукта ацетальдегида. Для этого был использован известный реагент на карбонильные соединения – дифенилгидразин и налажено хроматографическое определение соответствующего гидразона ацетальдегида. Полезность данной методики для анализа влияния внешних добавок на процесс радиолитического этанола не вызывает сомнений.

На основе результатов хромато-масс-спектрометрического исследования продуктов реакции синтетического кумарина в среде 5% этанола, насыщенной закисью азота, при поглощенной дозе 0.57 кГр был предложен адекватный, на наш взгляд, двухстадийный механизм взаимодействия  $\alpha$ -ГЭР с кумарином с образованием промежуточного радикального аддукта кумарин-ГЭР по 4-му положению кумарина и его последующего диспропорционирования с образованием гидрированной и дегидрированной молекулярных форм указанного аддукта по связи C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>. Ценность полученного результата состоит в том, что он акцентирует внимание на указанной двойной связи в структуре кумарина для реализации ее антирадикальных свойств. Необходимо отметить, что данный результат, опубликованный в 2014 году, согласуется с результатами независимого исследования белорусских авторов под руководством О.И. Шадыро, заслуженно признаваемых в качестве ведущих специалистов в данной области, которые были опубликованы в журнале *Radiation Physics and Chemistry* в том же самом 2014 году.

Удачной экспериментальной находкой представляется использование в данной работе специфической ловушки супероксидного анион радикала НСТ (нитросиний тетразолий), по конкуренции с которым удалось оценить константы скорости взаимодействия кумариновых производных с супероксидом. Несомненный интерес представляют также впервые полученные данные, касающиеся модулирующего действия ионов металлов на реакцию кумаринов с супероксидом.

Довольно значительная часть работы посвящена исследованию антирадикальной активности экстрактов и индивидуальных кумаринов в отношении ДФПГ. Несмотря на то, что антирадикальная активность растительных экстрактов в отношении ДФПГ общеизвестна, результаты применительно к данным видам кумаринсодержащих растений

получены впервые. Кроме того, в данном разделе работы ДФПГ впервые был использован для изучения пострadiационной восстанавливающей способности экстрактов и индивидуальных кумаринов в отношении ДФПГ. В пределах использованных поглощенных доз антирадикальная активность экстрактов и отдельных кумаринов, за исключением умбеллиферона, не менялась. В дальнейшем данный подход может, как нам представляется, успешно использоваться для тестирования индивидуальных особенностей и границ радиочувствительности исследуемых ингибирующих добавок.

Предложенный в работе набор методов, позволяющий всестороннее характеризовать реакционную способность и антирадикальную активность внешних химических добавок в процессах радиолитиза, может быть использован при разработке радиопротекторных средств и регламентов их применения, как для медицины, так и на производствах, использующих радиационную стерилизацию продукции. Дополнительный практический интерес могут представлять методики экстрагирования фракции кумаринов из растительного сырья.

В целом, автором работы выполнен значительный объем экспериментальных исследований. Полученные в работе результаты являются новыми. Достоверность полученных результатов и сделанных на их основе выводов сомнений не вызывает.

К тексту диссертации имеется ряд замечаний.

1. Литературный обзор выглядит слишком кратким. Так, например, автор диссертации, излагая современные представления о механизме радиолитиза этанола, не ссылается на автора, Гордона Фримана, на работах которого эти представления основаны.

2. Реакционная способность экстрактов или индивидуальных кумаринов, определяемая по образованию ацетальдегида, не может напрямую, без специального анализа, отождествляться с их антирадикальной активностью, как это делается в публикации автора (Бутлеровские сообщения, 2016) и в четвертом пункте положений, выносимых на защиту. Об антирадикальной активности тестируемых добавок могло бы свидетельствовать снижение уровня ацетальдегида в сравнении с контролем. Однако в данной работе во всех случаях, кроме одного, эффект противоположный. Это может означать, что реакции, протекающие в системе, не сводятся к простой одностадийной реакции диспропорционирования  $\alpha$ -ГЭР, а имеются, вероятно, дополнительные источники образования ацетальдегида.

3. В работе утверждается: «впервые показано, что гликозидная часть в молекулах кумаринов увеличивает их реакционную способность по сравнению с их агликонами». Это утверждение кажется не вполне вытекающим из всей совокупности полученных в работе данных. Реакционная способность гликозида эскулина и его агликона эскулетина сравнивается по трем независимым тестам: образование ацетальдегида при облучении водно-этанольной вытяжки, ингибирующее действие в реакции с ДФПГ, взаимодействие с супероксидом. При этом только в последнем тесте более эффективным был гликозид (эскулин). В двух первых тестах, наоборот, более эффективным был его агликон, эскулетин.

4. На стр. 117, исходя из данных рис. 3.5.2, сделан вывод, что «эскулетин не проявляет антирадикальной активности в реакции с диоксид-радикал-анионом». Однако на стр. 120 приведены результаты сравнительного исследования реакционной способности эскулетина, эскулина и кофейной кислоты по отношению к супероксид-анион радикалу. Данные рис. 3.5.3 и полученные значения констант взаимодействия данных веществ с супероксид-анион радикалом показывают, что эскулетин проявляет антирадикальную активность по отношению к  $O_2^{\cdot-}$ . Это противоречие не объясняется.

5. Работа содержит большое количество опечаток, стилистических неточностей, неоправданно используемых англицизмов. Список литературы оформлен не единообразно, разные источники литературы приведены в разных форматах (например, ссылки 2 и 5, 4 и 12), встречаются простые интернет-ссылки без дополнительного

описания (например, ссылка 67). Некоторые таблицы не имеют строк с указанием приводимых в столбцах параметров (табл. 1.1, табл. 3.3.3). В приведенных численных данных часто отсутствуют результаты статистической обработки. Следует также отметить, что в диссертации следовало бы делать промежуточные обобщающие выводы к разделам.

Все указанные замечания не относятся к критическим недостаткам, которые существенно влияют на выводы или положения, выносимые на защиту.

Диссертация Пхйю Мьинт У «Реакционная способность экстрактов донника, мурайи и некоторых кумаринов в их составе», представляемая на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней № 842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени.

Отзыв подготовлен старшим научным сотрудником, к.б.н. Н.И. Нешевым и одобрен на семинаре Отдела кинетики химических и биологических процессов ИПХФ РАН, протокол № 1 от 1 февраля 2018 г.

Председатель семинара, и.о. зав. отделом кинетики химических и биологических процессов, зав. лаб. молекулярной биологии ИПХФ РАН,

к.б.н.

 А.А. Терентьев

Ученый секретарь семинара, научный сотрудник,

к.б.н.

 А.А. Балакина

*Согласно Терентьеву и Балакиной утверждено.*

*Ученый секретарь ИПХФ РАН*

*(Б.А. Психе)*

