

ОТЗЫВ

официального оппонента по диссертационной работе ПХЙЬО МЬИНТ У
«Реакционная способность экстрактов донника, багульника, муррайи и
некоторых кумаринов в их составе», представленной на соискание ученой
степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.04 – физическая химия»

Свободнорадикальные окислительные процессы протекают во всех биологических объектах, а их стационарность обеспечивается физико-химической системой регуляции, функционирование которой в настоящее время показано и на мембранном, и на клеточном и органном уровнях. Активными регуляторами процессов окисления являются антиоксиданты (АО), т.е. вещества, реагирующие со свободными радикалами. Растения являются основными продуцентами большинства биологически активных веществ (БАВ), которые, наряду с полезными фармакологическими свойствами, обладают и антиоксидантными свойствами. Однако реакционная способность практически всех БАВ обусловлена комплексом факторов, в том числе: их концентрация, природа субстрата окисления, скорость зарождения радикалов в системе, взаимодействие АО с природными компонентами клетки. Однако понимание механизма фармакологической активности растительных экстрактов, представляющих собой комплекс различных БАВ, вызывает необходимость изучения их кинетических свойств в различных системах. В связи с изложенным, **актуальность** работы Пхйьо Мьинт У, посвященной изучению реакционной способности экстрактов ряда широко используемых на практике растений, несомненна.

Работа написана в традиционном плане и состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, выводов, списка использованной литературы и приложения. Работа изложена на 145 страницах, содержит 24 таблицы и 84 рисунка, список литературы включает 93 источника.

Во введении обосновывается необходимость постановки данной работы, ее актуальность и преимущества использования физико-химических методов

исследования для анализа реакционной способности экстрактов растений на разных стадиях их получения. Несмотря на то, что научная и практическая значимость работы, выносимые на защиту положения, личный вклад автора представлены в автореферате, эти разделы было бы желательно продублировать и в тексте введения к диссертации.

Литературный обзор соответствует теме диссертационной работы. В нем отражены участие супероксидного анион-радикала в иницировании свободнорадикальных процессов в системах и методы его регистрации, представлены физико-химические методы определения реакционной способности полифенолов и приведены сведения о химических превращениях кумаринов в свободнорадикальных реакциях, иницированных окислением. Завершают литературный обзор цель и задачи диссертационной работы. Однако вынесение в приложение сведений о компонентном составе изучаемых экстрактов растений, а также отсутствие цитирования в литературном обзоре большого цикла работ по механизмам действия природных и синтетических АО в системах разной степени сложности, выполненных сотрудниками школы академика Н.М. Эмануэля, являющихся мировым лидером в этой области исследований, существенно обеднило литературный обзор и нарушило логику необходимости выбора темы данного исследования.

В экспериментальной части (Глава II) представлено описание объектов исследования и методик экстракции из них кумаринов, детально изложены методы анализа реакционной способности экстрактов при их взаимодействии со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ) и супероксидным анион-радикалом, а также дано подробное описание существа всех использованных физико-химических методов анализа. Однако при этом необходимо отметить отсутствие сведений о повторности экспериментов и проведенной статистической оценке полученных в работе данных, которая, судя по представленным далее результатам, автором проводилась. Кроме того, вызывает недоумение различие суммарного объема

реакционной смеси при определении ингибирующей эффективности экстрактов в реакции с ДФПГ (табл. 2.2.1).

Глава III содержит 6 разделов, в которых представлены результаты исследования и их обсуждение. Раздел 3.1. состоит из двух частей: изучение спектральных характеристик экстрактов донника лекарственного, багульника болотного и муррайи в зависимости от природы растворителя для экстракции и их изменений после радиационного воздействия. Автором получен целый ряд интересных результатов. Так, показано изменение соотношения оптической плотности полос поглощения в области разных длин волн при поведении экстракции растительного образца в разных средах. Выявлены различия в количественном содержании компонентов в экстрактах донника, багульника и муррейи. Определены дозовые зависимости для разных компонентов экстрактов донника и багульника после радиационного воздействия в широком диапазоне доз. При этом выявлены два факта, представляющие интерес для дальнейших исследований. Во-первых, сохранение количественного содержания компонентов, характеризующихся максимум поглощения при длинах волн 270 и 310 нм в экстрактах багульника, облученных в диапазоне доз до 3 кГр, а в экстрактах донника до 2 кГр. Однако, во-вторых, компонент экстрактов донника и багульника в том же 40%-ном водном растворе этанола, длина волны полосы поглощения которого 333 нм, характеризуется отсутствием линейной зависимости от дозы облучения при повышении концентрации экстракта от 0,02 мг до 0,2 на 100 мл раствора (рис. 3.1.14 и 3.1.15). Регистрация спектров флуоресценции экстрактов донника и багульника также свидетельствует о различии природы компонентов в их составе, а наличие кумарина и дигидрокумарина в экстрактах донника количественно подтверждено хроматографически (раздел 3.3).

Увеличение концентрации этанола в водном растворе с 30 до 50% вызывает снижение концентрации кумарина в экстрактах, в то время как радиационное воздействие в дозе 6,3 кГр не уменьшает его концентрацию

только при облучении 50%-ного водно-этанольного экстракта донника, что может представлять интерес для практики.

Большое внимание в работе уделено разработке использования метода ВЭЖХ для анализа водных растворов кумаринов с целью дальнейшего применения для оценки механизма радиационно-химических превращений кумаринов и родственных им соединений. Результаты этих исследований позволили автору установить, что антирадикальная активность кумарина обусловлена его способностью взаимодействовать с гидроксильными радикалами, а привлечение метода масс-спектрометрии показало, что конечным продуктом свободнорадикальных реакций кумарина являются продукты реакции диспропорционирования аддукта углеродцентрированного радикала с кумарином. Достоинством работы является установление возможности анализа радиационно-химических эффектов при взаимодействии кумаринов и родственных им соединений (эскулин и эскулетин) с углеродцентрированными радикалами по выходу ацетальдегида при облучении их водно-этанольных растворов в деаэрированных условиях. Автором было обнаружено уменьшение радиационно-химического выхода ацетальдегида при облучении растворов этанола в присутствии эскулетина, в то время как влияние эскулина оказалось не столь однозначным. Различия в химическом составе изученных автором экстрактов обуславливают и достоверные различия их реакционной способности: уменьшение выхода ацетальдегида при облучении 70%-ных деаэрированных этанольных экстрактов происходит в ряду: багульник > муррайя > донник.

Оценку реакционной способности самих растительных экстрактов сДФПГ и ряда кумаринов, как и облученных экстрактов автор проводил преимущественно по величине % ингибирования, т.е. снижению концентрацииДФПГ после 30 мин инкубации реакционной смеси. Представлен большой экспериментальный материал, свидетельствующий о существенном влиянии содержания этанола, используемого в соотношении с водой при экстракции, зависимости эффекта от времени выдерживания реакционной смеси в темноте,

неоднозначного влияния концентрации добавленных экстрактов в зависимости от доли этанола в процессе экстракции, сложный характер зависимостей % ингибирования от дозы облучения. На наш взгляд, столь неоднозначные результаты экспериментов обусловлены целым рядом факторов. Во-первых, при оценке взаимодействия различных БАВ с объемным стабильным радикаломДФПГ, помимо % уменьшения его концентрации в течение определенного времени часто более полезно использовать влияние добавленных БАВ на начальную скорость уменьшенияДФПГ в системе, поскольку максимальный процент ингибирования не всегда соответствует величине начальной скорости взаимодействия компонентов. Во-вторых, сама экстракция БАВ из растительного сырья существенно зависит от доли этанола в водном растворе, что четко показано автором в разделе 3.1. При этом состав компонентов в экстрактах обусловлен видом растения, а их различная реакционная способность подтверждена анализом степени снижения концентрацииДФПГ в присутствии ряда индивидуальных кумаринов, результаты экспериментов с которыми представлены в разделе 3.3.4 данной работы. Кроме того, сложная зависимость эффекта ингибирования при взаимодействииДФПГ с экстрактом донника от концентрации в нем кумарина (рис. 3.3.12) также подтверждает необходимость использования и других инструментов для оценки реакционной способности природных объектов при взаимодействии сДФПГ.

Раздел 3.5 посвящен определению реакционной способности эскулетина и эскулина с супероксидным анион-радикалом, влиянию ионов различных металлов на процесс их взаимодействия и впервые показано, что введение ионов Zn^{2+} увеличивает реакционную способность данных кумаринов с 4 раза, а ионов Cu^{2+} в 10 раз.

Что касается раздела 3.6, то результаты исследований представлены настолько конспективно, что не позволяют в полной мере повести их анализ.

Таким образом, диссертационная работа представляет собой большое по объему и интересное экспериментальное исследование, выполненное с

использованием комплекса различных физико-химических методов (УФ-спектрометрия, газо-жидкостная хроматография, ВЭЖХ, масс-спектрометрия, флуоресценция и др.). Однако, наряду с отмеченными выше недочетами, необходимо указать и следующие. Во-первых, использование автором метода разложения суммарных УФ-спектров, проведенное для кумарина и экстрактов донника и багульника, что безусловно является достоинством исследования, позволило выявить набор полос, характеризующихся максимумами в разных областях длин волн. Однако интерпретация их отнесения к определенным химическим структурам, очевидно, нуждается в уточнении. Область поглощения при 260-280 нм обычно рассматривают как обусловленную наличием в молекулах сложноэфирных и карбонильных групп, а не простых фенолов, как указано в работе. Во-вторых, в подписях под рисунками и таблицами отсутствует конкретная информация о деталях эксперимента, что существенно затрудняет знакомство с результатами. В-третьих, в подписи под рис. 3.4.7 по оси абсцисс указано «время ингибирования», однако наиболее вероятно, что это время выдерживания реакционной смеси в темноте. Кроме того, кое-где встречаются грамматические ошибки и опечатки, а также неудачные выражения (например, спиртовое извлечение).

Однако в целом, сделанные замечания не затрагивают существа работы и не снижают благоприятного впечатления от знакомства с ее результатами, представляющими не только интерес для фундаментальных исследований в области биохимии кумаринов, но и важными для понимания наиболее эффективного использования экстрактов лекарственных растений на практике.

Основные результаты исследований по теме диссертационной работы Пхйю Мьинт У опубликованы в статьях, две из которых опубликованы в Перечне рекомендованных ВАК российских научных изданиях, и неоднократно представлялись на научных форумах.

Общие выводы диссертации (стр. 128-129) идентичны представленным в автореферате, который полностью соответствует материалу диссертационной работы и достаточно полно и четко отражает ее содержание.

Диссертация соответствует паспорту специальности 02.00.04 – физическая химия, оформлена согласно требованиями ВАК Министерства образования и науки РФ.

Таким образом, по объему проведенных экспериментальных исследований, достоверность которых обуславливает совокупность использованных в работе различных физико-химические методов анализа, актуальности и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Пхйю Мьинт У «Реакционная способность экстрактов донника, багульника, муррайи и некоторых кумаринов в их составе», соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Пхйю Мьинт У заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Зав. лабораторией физико-химических проблем
радиобиологии и экологии Федерального
государственного бюджетного учреждения
науки Института биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля РАН
д.х.н., профессор

Шишкина
Людмила Николаевна

Почтовый адрес: 119334, г. Москва,
ул. Косыгина, д.4, ИБХФ РАН
Тел. 8(495) 939-7186
Адрес электронной почты: shishkina@sky.chph.ras.ru

02.02.2018

Собственноручную подпись Л.Н. Шишкиной
Удостоверяю
Ученый секретарь ИБХФ РАН, к.б.н.



С.И. Скалацкая