

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу Маракулиной Ксении Михайловны «Взаимодействие природных фосфолипидов с антиоксидантами нового класса - изоборнилфенолами», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия

Актуальность темы

Изучение физико-химических свойств и функциональной роли биологически активных соединений с целью их применения в разнообразных областях человеческой деятельности является одним из приоритетных направлений фундаментальных исследований. К числу таких соединений относятся производные фенолов, отличающиеся большим распространением в природе, разнообразием биологических функций и широким спектром практического использования, в том числе в качестве антиоксидантов - стабилизаторов технических масел, пищевых жиров, полимеров и т.д. Природные и синтетические фенольные антиоксиданты успешно применяются не только в промышленности, но и в медицинской практике, однако механизм их действия в живых системах до конца не ясен. Для его установления требуется проведение междисциплинарных работ на стыке физической и супрамолекулярной химии, биофизики, фармакологии. Способность взаимодействовать с биологическими мембранами - необходимое условие проявления фармакологической активности, а образование биологическими поверхностно-активными веществами (ПАВ) супрамолекулярных комплексов или смешанных мицелл, обладающих новыми свойствами, является важным фактором, который в настоящее время широко используется при создании мягких наноматериалов для решения биотехнологических задач.

В этой связи диссертационная работа, посвященная изучению физико-химических характеристик новых полусинтетических антиоксидантов – изоборнилфенолов (ИБФ) - и их взаимодействию в модельных химических системах с образующими биологические мембраны фосфолипидами (ФЛ), а также разработке подходов для создания физико-химической модели, позволяющей выбрать перспективные изоборнилфенолы для дальнейшего исследования в сложных биологических системах, является актуальной.

Научная новизна результатов и выводов

Научная новизна исследования заключается в том, что в работе впервые подробно исследованы физико-химические характеристики препаратов природных фосфолипидов и соединений ряда полусинтетических антиоксидантов – изоборнилфенолов методами ИК-

и УФ-спектроскопии в средах различной полярности. Показано, что увеличение количества изоборнилных заместителей, находящихся в местах прямого сопряжения с ОН-группой, приводит к батохромному сдвигу полосы поглощения ОН-группы ИБФ при одновременном увеличении ее интенсивности, связанной с экранированностью гидроксильной группы. Совокупностью нескольких физико-химических методов впервые доказано образование комплексов изоборнилфенолов и природных фосфолипидов в органических растворителях, которое зависит как от структуры фенолов, так и природы фосфолипидов. Максимальные изменения УФ-спектров смесей ИБФ и ФЛ выявлены для комплексов сфингомиелина. При изучении размера агрегатов, образующихся в системе лецитин-гексан в отсутствие и в присутствии изоборнилфенолов установлено, что размер агрегатов в смешанной системе зависит от строения изоборнилфенолов. Полученные результаты могут быть положены в основу разработки физико-химической модели для первичного отбора соединений, способных связываться с биомембранами и перспективных для дальнейшего изучения в более сложных системах.

Степень обоснованности и достоверность результатов

Научные положения, составляющие новизну работы, результаты и выводы, сформулированные в диссертации, обоснованы большим массивом экспериментальных данных, полученных различными физико-химическими методами (УФ-, ИК-спектроскопия, динамическое рассеяние света). Значительный объем экспериментального материала, его взаимная согласованность и высокий научный уровень, надежная обработка общепринятыми статистическими методами позволяют заключить, что полученные К.М. Маракулиной результаты являются достоверными. Положения, составляющие научную новизну диссертационной работы, хорошо апробированы, представлены на многих (свыше 20-ти) Международных и Всероссийских конференциях и симпозиумах.

Значимость полученных результатов для науки

К наиболее значимым можно отнести следующие результаты, полученные в работе.

Установлено, что на физико-химические параметры препаратов природных фосфолипидов существенное влияние оказывают природа основной фракции, полярность среды, время экспозиции растворов и наличие минорных фракций; полученные данные важны для выбора препаратов с оптимальными свойствами, от которых во многом зависят результаты изучения растворов смесей биологических ПАВ.

При сравнительном изучении методами УФ- и ИК-спектроскопии спектральных характеристик фенолов, содержащих изоборнилные, изоборнилоксильные, метильные и

трет-бутильные группы, показано, что валентные колебания ОН-группы изоборнилфенолов находятся в области, характерной для пространственно незатрудненных фенолов; в гибридных фенолах, содержащих изоборнильный и трет-бутильный заместители в *орто*-положениях, гидроксильные группы частично экранированы, что свидетельствует о меньших экранирующих свойствах изоборнильной группы по сравнению с трет-бутильной.

Автором доказано наличие комплексов переменного состава природных фосфолипидов и изоборнилфенолов в органических растворителях. В ходе изучения влияние структуры изоборнилфенолов, природы основной фракции фосфолипидов и полярности среды на процесс комплексообразования установлено, что наиболее выраженной способностью к комплексообразованию обладают изоборнилфенолы, имеющие менее экранированную гидроксильную группу; препараты фосфолипидов по способности к комплексообразованию независимо от структуры изоборнилфенола располагаются в последовательности: сфингомиелин > лецитин > кефалин; во всех изученных растворителях в комплексообразовании участвуют гидроксильная группа изоборнилфенолов, сложноэфирная (лецитин), амидная (сфингомиелин) и холиновая группы фосфолипидов.

Методом динамического светорассеяния показано, что исследованные изоборнилфенолы способны влиять на вид распределения частиц по размерам и размер агрегатов природных фосфолипидов в *n*-гексане. Найдено, что в растворах смесей лецитина с изоборнилфенолами размер агрегатов зависит от строения изоборнилфенолов. Самые сильные изменения наблюдаются для смесей с фенолами, молекулы которых содержат одну изоборнильную группу в *орто*-положении, то время как в смеси с фенолом, в молекуле которого в *орто*-положениях находятся две изоборнильные группы, размер агрегатов мало отличается от размера агрегатов в растворе индивидуального лецитина.

Сравнение результатов, полученных при изучении комплексов фосфолипидов и изоборнилфенолов, размера агрегатов в растворах смесей лецитина с изоборнилфенолами и данных по влиянию изоборнилфенолов на гемолиз эритроцитов крови лабораторных животных, позволило установить взаимосвязь между особенностями самоорганизации в растворах смесей фосфолипидов и изоборнилфенолов и мембранотропными свойствами изученного ряда изоборнилфенолов в модельных биологических системах, что может быть положено в основу выбора соединений для дальнейшего изучения с целью использования в биомедицине.

Результаты, полученные при выполнении диссертационной работы, важны для направленного поиска новых биологически активных антиоксидантов на основе изоборнилфенолов, дальнейшего объяснения механизма их действия, которое определяется способностью влиять на процессы перекисного окисления липидов и структуру биомембран. Проведенные в диссертационной работе К.М. Маракулиной исследования позволили предложить комплексный подход к созданию физико-химической модели для первичной оценки способности липофильных биологически активных соединений к связыванию с биомембранами и изменению их структурного состояния, что может быть полезным для решения биотехнологических задач.

Оценка изложения материала, публикаций и автореферата

Диссертационная работа К.М. Маракулиной представляет собой законченное научное исследование. Диссертация состоит из введения, 5-ти глав, из которых глава 1- Литературный обзор, глава 2 - Материалы и методы, глава 3- Физико-химические свойства природных фосфолипидов, глава 4 - Физико-химическая характеристика фенольных антиоксидантов, глава 5 - Физико-химическая характеристика комплексов фенольных антиоксидантов с природными фосфолипидами, а также из заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы. Работа изложена на 132 страницах, содержит 35 рисунков и 21 таблицу. Список цитируемой литературы включает 173 наименования.

В разделе «Введение» обозначена актуальность работы, показана степень разработанности темы исследования, на основании чего определены цели и задачи выполненной работы, сформулирована научная новизна и практическая значимость полученных результатов, приведены данные по апробации работы и публикациях.

В Литературном обзоре обобщены современные представления о структурно-функциональных свойствах фосфолипидов и их физико-химических характеристиках, рассмотрены классификации антиоксидантов и приведены имеющиеся к настоящему времени сведения об антиоксидантных и биологических свойствах изоборнилфенолов в различных системах.

В главе «Материалы и методы» описаны объекты исследования, приведены методики разделения фосфолипидов на фракции, изучения качественного и количественного состава фосфолипидов, определения относительного содержания продуктов окисления липидов, количества пероксидов, антипероксидной активности. Подробно изложена методика определения стехиометрии молекулярных комплексов с использованием метода изомольных серий, адаптированная для бесцветных растворов

природных фосфолипидов и изоборнилфенолов, а также методы определения функциональных групп, участвующие в комплексообразовании, и размера агрегатов фосфолипидов в отсутствие и в присутствии изоборнилфенолов.

Результаты и их обсуждение представлены в главах 3-5 и заключении, в котором также приводятся данные о взаимосвязи между средним размером агрегатов лецитина в растворах их смесей с изученными изоборнилфенолами в н-гексане и мембранотропными свойствами изоборнилфенолов, установленными в модельных биологических системах.

Основные результаты диссертационной работы изложены в 35 публикациях, среди которых 6 статей в журналах, входящих в Перечень ВАК, 2 статьи в зарубежных журналах, глава в коллективной монографии (Россия), 5 статей в сборниках трудов конференций, имеющих индекс ISBN, тезисы 21-го доклад на Международных и Всероссийских конференциях.

Автореферат и публикации полно отражают содержание диссертационной работы.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

При явных достоинствах работы и полученных значимых результатах оформление диссертации не лишено недостатков.

1. Структурные формулы объектов исследования следовало привести в Литературном обзоре, в которой подробно описываются свойства выбранных изоборнилфенолов и фосфолипидов, а не в главе 2, в которых они приведены на рис. 2.1 и 2.2.

2. В главе 2 «Материалы и методы» при описании метода динамического светорассеяния (стр.40) формулу Стокса-Эйнштейна правильнее было бы привести в классическом виде, связывающем коэффициент диффузии с размером частиц, либо расшифровать обозначение F_{tr} в приведенном уравнении.

3. В главе 3 «Физико-химические свойства природных фосфолипидов» не соблюдена нумерация таблиц, после таблицы 3.5 (стр.52) сразу следует таблица 3.9 (стр. 58), а на стр. 63 обсуждаются данные рис. 3.12, которого в главе 3 нет.

4. В главе 5 «Физико-химическая характеристика комплексов фенольных антиоксидантов с природными фосфолипидами» на рис. 5.4, частично перепутаны обозначения кривых распределения частиц по размерам.

5. К достоинствам работы следует отнести оптимальное количество цветных рисунков с данными УФ- и ИК-спектров растворов исследованных веществ и их смесей, что к сожалению трудно сказать о данных, полученных методом динамического светорассеяния. При обсуждении самоорганизации растворов фосфолипидов и смешанных растворов фосфолипидов и изоборнилфенолов хотелось бы увидеть рисунки,

отражающие распределение частиц по размерам в этих системах, так как их недостаток затрудняет обсуждение диаграмм, приведенных на рис. 3.9 (стр. 60), 5.5 (стр. 87), 5.8 (стр.93) и таблиц 6.2-6.4 (стр. 100).

Перечисленные замечания носят рекомендательный характер и не снижают высокую научную значимость и новизну работы.

Заключение по диссертационной работе

В целом, считаю, что диссертация представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, содержащую новое решение актуальной научной задачи, имеющую высокую научную значимость и перспективу практической реализации, в которой показано влияние структуры нового класса антиоксидантов изоборнилфенолов и природных фосфолипидов на образование комплексов, что важно для направленного поиска новых биологически активных антиоксидантов и решения биотехнологических задач.

Диссертационная работа К.М. Маракулиной удовлетворяет критериальным требованиям, установленным пунктами 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней», а ее автор заслуживает присвоения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Ирина Сергеевна Рыжкина

доктор химических наук, доцент

ФГБУН Институт органической и физической химии

им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН

ведущий научный сотрудник

лаборатории физико-химии супрамолекулярных систем

420088, г. Казань, ул. Академика Арбузова, д.8

ryzhkina@iopc.ru

9 января 2017 года

Рыжкина

