

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Ивановой Аллы Владимировны «Потенциометрия в исследовании антиоксидантных и антирадикальных свойств веществ», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Диссертационная работа Аллы Владимировны Ивановой посвящена электрохимическим способам оценки антиоксидантных свойств индивидуальных соединений и объектов сложного состава, в частности, возможностям потенциометрии в оценке интегральных антиоксидантных показателей. Антиоксиданты как объекты анализа представляют практический интерес, поскольку обеспечивают защиту организма человека от негативного воздействия активных форм кислорода и азота, предотвращая развитие так называемого окислительного стресса или нивелируя его последствия. Одним из актуальных направлений в этой области является создание подходов к определению интегральных параметров – антиоксидантной и антирадикальной емкости, поскольку эффективность функционирования антиоксидантной системы организма связана с суммарным содержанием антиоксидантов и их возможными синергетическими или антагонистическими эффектами. Поэтому антиоксиданты являются востребованными объектами исследования и анализа в науках о жизни. Таким образом, диссертационная работа А.В. Ивановой, направленная на развитие теории и практики потенциометрического метода в комплексной оценке антиоксидантных и антирадикальных свойств веществ и создание новых методологических подходов для определения антиоксидантной/антирадикальной емкости различных объектов, основанных на механизмах действия антиоксидантов в организме, представляет научный и практический интерес и является, несомненно, актуальной.

Основные достижения диссертанта, которые **определяют научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы**, состоят в создании методологии комплексного исследования антиоксидантных свойств веществ, основанной на механизмах действия антиоксидантов в организме, что важно для решения проблем охраны здоровья человека и повышения качества жизни. Имеет значение обоснование выбора метода потенциометрии и модельных окислителей  $K_3[Fe(CN)_6]$  и 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида для определения интегральных параметров антиоксидантной/антирадикальной емкости в реакциях

переноса электрона и атома водорода, соответственно. К важным достижениям следует отнести результаты оценки кинетических параметров генерирования пероксильных радикалов потенциометрическим методом в условиях, близких к физиологическим, и закономерности изменения окислительно-восстановительного потенциала радикал генерирующей системы. Установленные стехиометрические коэффициенты широкого круга антиоксидантов различной природы в реакциях электронного переноса с участием  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  и коэффициенты ингибирования в реакциях электронно-протонного переноса с участием пероксильных радикалов позволили разработать новые потенциометрические способы оценки интегральных антиоксидантных показателей (антиоксидантной и антирадикальной емкости) индивидуальных природных и синтетических антиоксидантов и реальных объектов (экстрактов лекарственного растительного сырья, продуктов питания, лекарственных средств, биологических жидкостей), характеризующихся простотой, экспрессностью, точностью и воспроизводимостью.

Практическая значимость подтверждается также патентами и метрологической аттестацией разработанных методик оценки интегральных антиоксидантных параметров.

Диссертация имеет традиционное строение, изложена на 350 страницах компьютерной верстки, включая приложения на 5 страницах. Работа состоит из введения, пяти глав, заключения, списка условных обозначений и сокращений, списка литературы и содержит 85 таблиц, 89 рисунков и библиографию из 412 наименований.

Во *введении* раскрыта актуальность темы диссертации и степень ее разработанности, сформулированы цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, а также положения, выносимые на защиту. Представлены сведения об апробации работы и публикациях по ее теме.

В *первой главе* (литературном обзоре) рассмотрены активные формы кислорода, механизмы из действия и система антиоксидантной защиты организма. Подробно разобраны основные подходы оценки антиоксидантных свойств веществ, в зависимости от механизма реакции антиоксидантов с радикальными частицами. Уделено внимание терминологии и сопоставлению результатов оценки антиоксидантных свойств с помощью различных методов. В отдельном подразделе обсуждены перспективы развития способов оценки

антиоксидантных свойств и обоснована необходимость разработки новых подходов.

Во *второй главе* представлены данные об объектах исследования, используемых методах и приборах, описаны рабочие условия проведения эксперимента и способах математической обработки полученных результатов.

*Третья глава* посвящена разработке потенциометрического способа оценки антиоксидантной емкости, основанного на реакции переноса электрона. Уделено внимание обоснованию выбора модели окислителя и условиям реализации реакции переноса электрона с антиоксиданта на модельный окислитель (гексацианоферрат(III) калия). Представлены результаты оценки антиоксидантной емкости индивидуальных антиоксидантов различной природы. Показана взаимосвязь антиоксидантной емкости с числом функциональных групп, обуславливающих антиоксидантные свойства изучаемых молекул. Сделан акцент на влияние хелатирующей способности антиоксидантов и ее вклад в величину антиоксидантной емкости.

В *четвертой главе* представлены теоретические подходы к исследованию реакций переноса атомов водорода с антиоксиданта на модельный окислитель с применением потенциометрии. Проведено обоснование выбора радикал-генерирующей системы и изучена кинетика реакции термического распада 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида и изучены закономерности генерирования пероксильных радикалов и их ингибирования антиоксидантами. Предложены новые потенциометрические способы определения кинетических параметров реакции генерирования радикалов и антирадикальной емкости. Представлены данные по антирадикальной емкости индивидуальных антиоксидантов и оценено влияние ионной силы раствора и буферной емкости на результаты определения.

В *пятой главе* представлены результаты определения интегральных антиоксидантных параметров широкого круга реальных объектов. Рассмотрены индивидуальные природные и синтетические антиоксиданты, продукты питания (ягоды, фрукты, овощи, чай, спиртные напитки), лекарственные средства, извлечения из лекарственного растительного сырья, биологические материалы (плазма, сыворотка, эритроцитарная масса, диализная жидкость). Проведен поиск рабочих условий проведения анализа, оценены аналитические и метрологические характеристики предложенных способов. Полученные результаты сопоставлены с

данными независимых методов, основанных на других физико-химических принципах.

В *заключении* диссертации обобщены результаты и подведены итоги проведенного исследования.

В *приложениях* представлены свидетельства об аттестации разработанных методик и акт о внедрении разработанных методик в учебный процесс, что еще раз подчеркивает актуальность проведенных исследований и их полезность для практики.

Исходя из вышесказанного, научная новизна подходов, их теоретическая и практическая значимость не вызывает сомнений.

**Степень достоверности и обоснованности научных положений и выводов**, изложенных в диссертации, определяется большим объемом экспериментального материала, полученного с применением современных методов исследования на сертифицированном оборудовании для электрохимических и спектроскопических измерений. Результаты сопоставлены с данными независимых методов и хорошо согласуются с литературными сведениями. Полученные метрологические характеристики свидетельствуют о достоверности представленных в диссертации результатов.

Предложенные методики определения антиоксидантной емкости пищевых продуктов, продовольственного сырья, биологически активных добавок, витаминов и биологических материалов (крови и ее фракций) прошли государственную аттестацию.

Результаты работы опубликованы в 16 статьях в журналах, рекомендованных ВАК, 4 патентах и 2 учебных пособиях. Работа прошла широкую апробацию на профильных научных конференциях. Представленная работа выполнена при поддержке ряда грантов и программ.

Вышеотмеченное позволяет заключить, что полученные А.В. Ивановой результаты являются достоверными, а сделанные выводы обоснованными.

По диссертационной работе возникли некоторые вопросы и замечания.

1. На мой взгляд, следовало бы уменьшить число подразделов в главах 3-5. Это заметно бы упростило восприятие материала, позволяя создать более целостную картину.
2. На рис. 1.5 (С. 33) коэнзим Q ошибочно отнесен к фенольным антиоксидантам, а на рис. 1.6 (С. 34) неверно представлена структурная формула убихинонов (вместо хинонового фрагмента показан

гидрохиноновый). В целом, следует отметить, что убихиноны сами не являются антиоксидантами, они являются коферментами, участвующими в митохондриальных цепях переноса электрона. Антиоксидантное действие проявляет восстановленная форма – убихинолы, структура которых и показана на рисунке 1.6.

3. Главы 2.3 и 5.1, в таблицах 2.2 (С. 104) и 5.1 (С. 213) неверно указано название соединения № 2 (4-метилскулетин вместо 4-метилэскулетин). Кроме того, ряд представленных соединений (кверцетин, хризин, генистеин, апигенин и т.д.) не являются производными кумаринов, так как не содержат 5,6-бензо- $\alpha$ -пирановый фрагмент. Соединение № 5 ошибочно названо силубином вместо силибина или силибина. Силубин – это 1-бутилбигуанид или буформин.
4. Из текста главы 2 диссертации не понятно, какие антиоксиданты растворяли в воде, а какие в спирте. Кроме того, в главе 2.3 следовало бы представить пробоподготовку овощей, фруктов и ягод для последующей оценки антиоксидантных свойств. Тем более, что получаемые результаты во многом зависят от стадий и методики подготовки объекта к анализу.
5. С. 134, автор отмечает, что «тиолы в кислых средах депротонированы». Ионизация тиольной группы наблюдается лишь в щелочных средах при  $\text{pH} > 8$ . В кислых средах тиолы существуют в виде цвиттер-ионов.
6. Как известно, для низкомолекулярных антиоксидантов, исследуемых в работе, антиоксидантные свойства зависят от концентрации. Это отмечает и автор в главе 1.5. При этом в работе рассматриваются концентрации антиоксидантов на уровне  $10^{-4}$  –  $10^{-2}$  М. При таких концентрациях рассматриваемые антиоксиданты обычно проявляют выраженный прооксидантный эффект.
7. В работе не обсуждается влияние этанола на результаты определения антиоксидантной емкости, хотя предложенный подход применен для ряда спиртосодержащих объектов.
8. Раздел 3.4.2 (С. 161), не совсем понятно почему автор считает, что замена растворителя, смешивающегося с водой, приводит к образованию мицеллярной среды. Какой компонент и за счет чего обуславливает мицеллообразование?
9. С. 183, почему для генерации пероксильных радикалов использовали концентрации инициатора 0.05 и 0.01 М?

10. Все рисунки в главе 5 с результатами оценки антиоксидантной и антирадикальной емкости представлены без доверительного интервала или стандартного отклонения, что затрудняет сопоставление полученных данных.
11. В реальных объектах фенольные антиоксиданты существуют в виде гликозидов. Кроме того, образцы растительного происхождения содержат широкий круг сахаридов и полисахаридов. Проводилась ли оценка влияния сахаридов на результаты определения антиоксидантных параметров с применением разработанных подходов?
12. С. 216, исходя из антиоксидантного состава вин, для метода добавок следовало бы использовать антиоксидант фенольного типа, а не аскорбиновую кислоту. Аналогично в случае противорадикальной активности лекарственного растительного сырья по реакции с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (С. 238-239).
13. С. 262, текст раздела 5.5. и данные таблицы 5.28, сопоставление полученных результатов с заявленными производителем не совсем корректно. Для сравнения следует использовать стандартный фармакопейный метод. А для валидации результатов сопоставить значения  $t$ - и  $F$ -критериев.
14. В работе встречается большое количество опечаток, неудачных фраз и стилистических ошибок. Большое количество аббревиатур, причем одновременно русско- и англоязычных затрудняет восприятие материала. Реакционные частицы в тексте представлены в различном стиле, например  $\text{NO}$  и  $\text{NO}^\bullet$ . В главе 4 одновременно используются различные формы представления комплексных соединений  $[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]$  и  $[\text{M}^{\text{Red}}\text{L}]$ ,  $[\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}]$  и  $[\text{M}^{\text{Ox}}\text{L}]$ . На С. 188, в тексте неверно указано значение константы скорости генерации радикалов.

Отмеченные замечания не снижают общую положительную оценку работы. Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации.

Диссертационная работа А.В. Ивановой, посвященная потенциометрическим способам оценки антиоксидантных свойств, соответствует специальности «аналитическая химия» (области исследований 2 и 10 паспорта специальности).

С учетом вышесказанного, считаю, что диссертационная работа Аллы Владимировны Ивановой «Потенциометрия в исследовании антиоксидантных и антирадикальных свойств веществ» по объему полученных экспериментальных данных, их новизне, уровню обсуждения, научной и практической значимости соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых

степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым к докторским диссертациям, и является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований сформулированы теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в области электроаналитической химии антиоксидантов. Автор работы, Иванова Алла Владимировна, достойна присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Официальный оппонент

доктор химических наук, доцент,

профессор кафедры аналитической химии

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Зиятдинова Гузель Камилевна



420008, г. Казань,  
ул. Кремлевская, 18  
тел. (843) 233-77-36  
e-mail: Ziyatdinovag@mail.ru



28 октября 2019 г.