

## ОТЗЫВ

**официального оппонента Майстренко Валерия Николаевича** на диссертацию **Ивановой Аллы Владимировны** «Потенциометрия в исследовании антиоксидантных и антирадикальных свойств веществ», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Что такое антиоксиданты и для чего они нужны? Такой вопрос задают себе сегодня многие люди. В последние десятилетия ученые и исследователи различных стран изучают эти вещества. Их удивительные свойства и механизмы действия вызывают интерес физиков, химиков, биологов и других специалистов в той или иной сфере, а также врачей и фармацевтов, которые сталкиваются с ними в своей практике. В общем, антиоксиданты – это вещества, защищающие клетки (точнее мембраны клеток) от вредных эффектов или реакций, которые могут вызвать избыточное окисление в живых организмах. Иначе говоря, это специфическая группа химических веществ различного строения, обладающих одним общим свойством – способностью связывать свободные радикалы, образующиеся в организме человека в результате многочисленных реакций, и замедлять окислительно-восстановительные процессы, повреждающие ткани, ускорять выздоровление и противостоять инфекциям. Антиоксиданты помогают предотвратить многие болезни, такие как рак, сердечнососудистые и инфекционные заболевания и др. Они позволяют увеличить продолжительность жизни, повысить ее «качество», дают возможность человеку контролировать свое здоровье. В то же время, повышенные дозы антиоксидантов могут привести к развитию патологических процессов, не связанных с действием свободных радикалов. Когда антиоксидантов в организме становится слишком много, они превращаются в прооксиданты и действуют с точностью до наоборот.

Именно поэтому тема диссертации, направленной на разработку потенциометрических методов исследования антиоксидантных и антирадикальных свойств различных веществ и способов их экспресс-анализа с целью медицинской диагностики, контроля качества пищевых продуктов, фармацевтических препаратов, биологически активных добавок и др. **является актуальной** и не вызывает сомнений. На сегодняшний день, пожалуй, нельзя найти ни одной области медицины, биохимии, биофизики, фармации, пищевой технологии, в которой бы не изучались аспекты антиоксидантного и антирадикального действия различных веществ.

Следует заметить, что круг методов исследования антиоксидантной активности и антирадикальных свойств химических соединений достаточно широк. Чаще всего используются методы спектрофотометрии, флюорометрии, хемилюминесценции, вольтамперометрии, ЭПР и др. Однако, принимая во внимание, что с химической точки зрения действие антиоксидантов в основном сводится к ингибированию процессов с участием свободных радикалов и радикал-генерирующих систем или с участием соединений нерадикальной природы, изменяющих физико-химические свойства системы при взаимодействии с антиоксидантами, применение потенциометрии помимо соответствия природе наблюдаемых процессов имеет определенные преимущества перед спектральными методами, такие как простота измерений, экспрессность, высокая чувствительность, возможность проведения исследований в мутных и окрашенных растворах и др. Как справедливо отмечается в диссертации, существующие способы интегральной оценки антиоксидантных свойств веществ редко ориентируются на выполнение всех требований. Проблема разработки методик, позволяющих получить надежные и корректные результаты, остается до конца нерешенной, а создание новых подходов к определению интегральных характеристик антиоксидантной/антирадикальной емкости веществ до сих пор является востребованным.

**Цель работы** - развитие теории и практики потенциометрического метода в комплексной оценке антиоксидантных и антирадикальных свойств веществ и создание новых методологических подходов для определения антиоксидантной/антирадикальной емкости (АОЕ/АРЕ) различных объектов, основанных на механизмах действия антиоксидантов в организме человека.

**Научная новизна** исследования заключается в обосновании критериев выбора модельной системы для потенциометрического исследования антиоксидантных свойств веществ и применении потенциометрии для изучения реакций электронного и электронно-протонного переноса с участием антиоксидантов при определении интегральных характеристик АОЕ и АРЕ различных объектов. Автором изучены закономерности протекания реакции  $K_3[Fe(CN)_6]$  с антиоксидантами, показана возможность использования редокс-потенциалов системы  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  для оценки антиоксидантных свойств веществ, установлена взаимосвязь структуры антиоксидантов и их хелатирующей способности с интегральными значениями АОЕ, изучены закономерности изменения редокс-потенциалов в реакциях генерирования пероксильных радикалов, показана возможность использования потенциометрии для оценки кинетических параметров этих реакций. Установлены также закономерности изменения редокс-потенциала радикал-генерирующей системы на примере 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида в качестве источника пероксильных радикалов в процессах их генерирования и при ингибировании антиоксидантами, показана возможность использования потенциометрии для количественной оценки этих процессов. Предложены новые подходы к использованию потенциометрии для определения интегральных параметров АОЕ и АРЕ различных объектов.

Несомненна и **практическая значимость работы**, поскольку в ней разработаны оригинальная потенциометрическая методика определения АОЕ индивидуальных веществ и многокомпонентных объектов, основанная на взаимодействии антиоксидантов с  $K_3[Fe(CN)_6]$ , а также потенциометриче-

ская методика определения АРЕ индивидуальных и многокомпонентных объектов, основанная на взаимодействии антиоксидантов с генерируемыми пероксильными радикалами, образующимися при распаде 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида. Ивановой А.В. разработаны и запатентованы алгоритмы потенциометрического определения АОЕ, АРЕ и кинетических параметров реакций, оптимизированы условия анализа, изучено большое количество объектов (индивидуальные вещества природного происхождения и синтезированные, экстракты растительного сырья, лекарственные препараты, пищевые продукты, биологические жидкости), в том числе с привлечением независимых методов, оценены аналитические и метрологические характеристики разработанных методик. Методики определения антиоксидантной емкости пищевых продуктов, крови и ее фракций аттестованы и внедрены в образовательный процесс.

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Текст диссертации изложен на 350 страницах, содержит 89 рисунков, 85 таблиц, 3 приложения и 412 библиографических ссылок. По теме диссертации опубликовано 16 статей в рецензируемых научных журналах из перечня ВАК, из которых 8 статей в зарубежных изданиях, в том числе с высоким импакт-фактором, 4 патента РФ и 2 учебных пособия. Автореферат диссертации в основном отражает ее содержание.

Во **введении** раскрыта актуальность темы, определены цели и задачи исследования, сформулированы научная новизна и практическая значимость работы.

В **литературном обзоре** (глава 1) рассмотрены основные механизмы действия антиоксидантов с химической точки зрения, их превращения и реакции, которые сводятся к реакциям окисления – переносу электрона и атома водорода на субстрат, и реакциям переноса одной или нескольких электронных пар – комплексообразование антиоксидантов с ионами металлов переменной валентности. Проведен также сравнительный анализ антиоксидант-

ных свойств веществ, полученных различными методами, и рассмотрены перспективы развития способов исследования антиоксидантных свойств различных объектов. Следует заметить, что одной из причин, препятствующих широкому распространению потенциометрии для определения АОЕ, является способность многих веществ участвовать в электрохимических реакциях в качестве восстановителя. По существу, в этом методе измеряется суммарный восстановительный потенциал, соответствующий не только исследуемому антиоксиданту, но и любым другим соединениям, присутствующим в растворах аналитов. К сожалению, Иванова А.В. лишь вскользь остановилась именно на этом вопросе, хотя в последующих главах для сравнения приводятся данные по определению АОА и другими методами.

Во **второй главе** представлены сведения об объектах исследования, используемых методах и приборах, описаны условия проведения экспериментов, методики определения АОА различными методами, статистической обработки полученных результатов и оценки пределов обнаружения.

**Главы 3 и 4** посвящены потенциометрическому определению интегральных параметров АОЕ и АРЕ с использованием реакций переноса электрона и атомов водорода. Методом потенциометрии изучено взаимодействие антиоксидантов с выбранными окислителями, определены стехиометрические коэффициенты в реакциях электронного переноса и коэффициенты ингибирования в реакциях электронно-протонного переноса. Приводятся данные по исследованию кинетики генерирования пероксильных радикалов при распаде инициатора 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида в условиях, близких к реальным в живых организмах, оценены скорость и константы скорости генерирования радикалов. Установлены закономерности изменения редокс-потенциалов в такой системе в процессах генерирования радикалов и ингибирования антиоксидантами.

В **главе 5** рассмотрены возможности применения потенциометрического метода для исследования антиоксидантной и антирадикальной емкости ре-

альных объектов – алкогольных напитков, фруктов, овощей, чая, экстрактов растительного сырья, витаминов, биологических жидкостей и др., оценены метрологические характеристики методик. Предложенные способы определения интегральных параметров антиоксидантной и антирадикальной емкости веществ отличаются простотой, экспрессностью, правильностью и точностью.

Таким образом, в диссертации Ивановой А.В. рассмотрены проблемы, касающиеся комплексного потенциометрического исследования антиоксидантных/антирадикальных свойств веществ. Совокупность теоретических и практических выводов, полученных в работе, свидетельствует о больших возможностях метода, основанного на измерении редокс-потенциалов в реакциях антиоксидантов с модельными окислителями радикальной и нерадикальной природы, при определении интегральных параметров АОЕ и АРЕ. Полученные результаты имеют важное значение как для электроаналитической химии, так и для смежных областей медицины, биохимии, биофизики, фармации, пищевой технологии и др.

Работа написана научным языком, хорошо оформлена, иллюстрирована большим количеством рисунков, наглядно отражающих экспериментальные результаты и зависимости. Автор владеет современными методами электрохимии и аналитической химии, математической обработки результатов измерений и оценки погрешности, достаточно обоснованно объясняет полученные экспериментальные данные. Достоверность научных положений, полученных результатов и сформулированных в работе выводов обеспечена использованием современных методов исследования для электрохимических и спектральных измерений, высокой степенью корреляции полученных экспериментальных результатов с теоретически ожидаемыми и с независимыми методами исследования, согласованностью с литературными данными, высокими показателями метрологических характеристик. Основные положения

диссертации обсуждались на многочисленных российских и зарубежных научных конференциях, симпозиумах и съездах.

**Личный вклад автора** в исследованиях, проведенных в рамках диссертационной работы, заключается в постановке задачи, обосновании методологии исследования антиоксидантных свойств веществ на основании их действия в организме, развитии теории потенциометрического исследования реакций электронно-протонного переноса, в теоретическом обосновании выбранных окислителей и создании новых подходов к определению АОЕ/АРЕ, как индивидуальных веществ, так и объектов со сложной матрицей.

По работе имеются следующие замечания, которые не являются принципиальными, а лишь позволяют уточнить отдельные экспериментальные результаты и теоретические положения.

1. В работе выполнены исследования и предложены новые потенциометрические способы оценки антиоксидантных/антирадикальных свойств веществ, основанные на измерении редокс-потенциалов в реакциях антиоксидантов с модельными окислителями радикальной и нерадикальной природы. Хотя это и позволяет во многом нивелировать основной недостаток потенциометрического способа оценки антиоксидантной активности веществ, тем не менее, в любом случае измеряется редокс-потенциал, который может соответствовать не только исследуемому антиоксиданту, но и другим соединениям, присутствующим в растворе, т.е. является интегральным показателем. Конечно, относительные характеристики изменения редокс-потенциалов для различных веществ также имеют важное значение. Однако речь идет об абсолютных значениях этих характеристик при сравнении различных методов. Правда, следует заметить, что в литературе до настоящего времени продолжают дискуссии о том, что же принимать за АОА и АОЕ веществ. Многие работы такого плана интересны, скорее, для демонстрации потенциальных возможностей тех или иных методов, чем для реального применения на практике, либо носят рекламный характер. Зачастую сравнение данных, получен-

ных разными методами, не представляется возможным, поскольку данные, основанные на различных принципах измерения и различных модельных системах, существенно отличаются между собой. Поэтому для оценки антиоксидантных свойств веществ в основном используются методы оптической спектроскопии и люминесценции, в частности хемилюминесценции, которые позволяют следить за протеканием конкретных редокс-реакций, в том числе и на поверхности клеточных мембран. В диссертации при анализе реальных объектов речь, в основном, идет об интегральных характеристиках. Как они согласуются с АОА различных веществ в сложных биологических матрицах?

2. Поскольку основная идея предложенного автором метода определения интегральных параметров АОЕ и АРЕ основана на измерении редокс-потенциалов в реакциях антиоксидантов с модельными окислителями радикальной и нерадикальной природы, по-видимому, эти параметры должны зависеть от природы образующихся при распаде инициаторов радикалов. В работе подробно изучены кинетические характеристики реакций и их влияние на редокс-потенциалы для 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида. Возникает вопрос, почему в качестве модельного соединения выбран этот инициатор свободно-радикальных реакций, а не широко распространенные диалкил- и диацилпероксиды, нитриты или дисульфиды, которые могут присутствовать в живых организмах.

3. Хотя оформление диссертации в целом не вызывает нареканий, имеются замечания по отдельным рисункам и схемам редокс-процессов. В частности, на схеме электроокисления мочевой кислоты (стр. 152) нет соответствия между числом переносимых протонов и электронов, на рис. 4.3 (стр. 178) названия и размерности осей приведены на английском языке, на рис. 4.2 (стр. 177) не указаны нижние и верхние индексы, на рис. 5.4 (стр. 222) не указано содержание экстрактивных веществ в образце 9.



4. Также в диссертации имеются отдельные опечатки в названии рисунков и таблиц, списке литературы, например, в названии рис. 3.2 (стр. 144), в 3 строке на стр. 149 и др.

Несмотря на указанные замечания, проведенное Ивановой Аллой Владимировной исследование по своей актуальности, научной новизне, объему и практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени доктора химических наук, а автор Иванова Алла Владимировна достойна присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Официальный оппонент, доктор химических наук, заведующий кафедрой аналитической химии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», профессор, специальности по диплому доктора наук 02.00.04 – Физическая химия, 02.00.02 – Аналитическая химия.

Майстренко Валерий Николаевич

15 ноября 2019 года.

Почтовый адрес: 450076, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Заки Валиди, д. 32, БашГУ, химический факультет. Телефон: рабочий 8(347) 2299712, мобильный +79177855199, E-mail: V\_maistrenko@mail.ru

