

ЧУМХУРИИ ТОЧИКИСТОН

ДОНИШГОХИ  
МИЛЛИИ ТОЧИКИСТОН



РЕСПУБЛИКА ТАДЖИКИСТАН

ТАДЖИКСКИЙ  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

734025, ш. Душанбе, хиёбони Рӯдакӣ, 17

тел.: (+992-37) 221-77-11, факс: (+992-37) 221-48-84

e-mail: tgnu@mail.tj, tnu.int.re@gmail.com

аз «04» 09 соли 2015  
от «04» 09 2015 года

сод.№ 2778-03  
исх.№ 2778-03

### «У Т В Е Р Ж Д А Ў»



### О Т З Ы В

ведущей организации на диссертационную работу  
**Холовой Шоиры Алимахмадовны**  
на тему: «Изучение влияния некоторых природных  
органических кислот на свойства и надмолекулярную  
структуру холестерина *in vitro* физико-химическими  
методами», представленной на соискание ученой  
степени кандидата химических наук по специальности  
02.00.04 – физическая химия.

Общеизвестно, что основной причиной таких болезней века как инфаркт миокарда, атеросклероз, а также желчнокаменная болезнь являются изменения физико-химического свойства крови и желчи человека, избыток холестерина в них. Это приводит к нарушению мицеллярности состава крови и желчи, уменьшению содержания фосфолипидов и ненасыщенных триглицеридов, образованию холестериновых бляшек в стенках кровеносных сосудов, а в жёлчном пузыре – холестериновых камней. Эта патология являются весьма распространенной среди населения планеты.

Многие клиники мира как профилактическое средство для разжижения крови при различных сердечно – сосудистых заболеваниях применяют ацетилсалициловую кислоту. По настоящее время практически не исследовано то, как влияют другие жизненно важные органические кислоты на биохимико-физическое состояние биообъектов и холестерин. В связи с этим, одним из актуальных вопросов для здравоохранения, различных направлений медицины, химии и фармакологии остается поиск методов и способов устранения литогенных свойств крови и желчи, с целью профилактики и эффективного лечения сердечно – сосудистых заболеваний и образования желчных камней. Поэтому диссертационная работа **Холовой Шоиры Алимахмадовны** посвящена «Исследованию влияния некоторых природных органических кислот: аскорбиновой, янтарной, лимонной, ацетилсалициловой и хенодезоксихолевой на агрегатное состояние холестерина».

**Научная новизна работы.** Впервые в среде жизненно важных органических кислот: аскорбиновой, янтарной, лимонной и ацетилсалициловой в условиях *in vitro* изучено изменение рН, показателя преломления и растворимости холестерина. Методом спиновой метки показано влияние органических кислот на агрегатное состояние холестерина. Установлено, что указанные органические кислоты по-разному влияют на молекулярную структуру холестерина.

Разработанный в работе экспериментальный подход по изучению надмолекулярной структуры холестерина может быть использован для изучения состояния холестерина в биологических мембранах под действием физиологически активных веществ и при патологии.

Научные исследования, проведенные диссидентом и результаты, изложенные в представленной работе, выполнены в соответствии с планом НИР Государственного научно-исследовательского института питания Министерства промышленности и новых технологий Республики Таджикистан №0107ТД691.

**Вклад автора** состоит в анализе литературных данных, постановке задач, подготовке и проведении экспериментальной части, анализе и обработке полученных результатов, подготовке научных статей.

**Диссертационная работа** Холовой Ш.А. состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 165 наименований, изложена на 100 страницах компьютерного текста, включающего 18 рисунков и 9 таблиц.

**Во введении** обоснована актуальность проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, показана научная новизна, практическая ценность полученных результатов исследования и приведены положения, выносимые на защиту.

**В первой главе** представлен обзор имеющихся литературных сведений об основных работах в области изучения химико-биологической характеристики холестерина и природных органических кислот: аскорбиновой, лимонной, янтарной и ацетилсалициловой. Показана роль холестерина в строении тканей и жидкостей организма, создании клеточных структур. Отмечено что он составляет основу ряда гормонов, принимает участие в образовании желчных кислот, является составной частью витамина Д и клеточных мембран. Холестерин в составе клеточной плазматической мембранны играет роль модификатора биослоя, придавая ему определенную жесткость за счет увеличения плотности «упаковки» молекул фосфолипидов, т.е. является стабилизатором текучести плазматической мембранны. Большое количество потребляемых человеком жиров печень перерабатывает в холестерин. Из нее он попадает в желчь, потом адсорбируется кровью, с которой и поступает в ткани.

Поскольку холестерин плохо растворим в воде, в чистом виде он не может доставляться к тканям организма при помощи, основанной на воде крови. Поэтому холестерин в крови находится в виде хорошо растворимых комплексных соединений с особыми белками – транспортёрами, так называемыми аполипопротеинами. Эти комплексные соединения называются липопротеинами.

Насыщение крови чрезмерным количеством холестерина, т. е. откладывание тяжелых воскообразных жиров на стенках сосудов зависит не от возраста, а нездорового образа жизни. Отмечено, что желчь перенасыщенная холестерином, становится коллоидной, неустойчивой и в ней образуются холестериновые кристаллы. Выпадение в осадок нерастворимого холестерина, имеет прямую зависимость от эквивалентных соотношений концентрации желчных кислот и лецитина. Лецитин при определенных концентрациях образуют смешенные двойные соли - мицеллы. Благодаря именно этим мицеллам определенное количество холестерина находится в растворенном состоянии. Не весь холестерин транспортируется в составе мицелл, а определенная его часть поступает в желчь в виде лецитин – холестериновых микрокомплексов.

Кроме того, в этой главе описана суть метода спиновых меток, который стал одним из информативных в изучении биологических объектов. В макромолекулы исследуемого объекта вводят стабильный нитроксильный радикал, который химически присоединяется к молекулам исследуемого объекта и его спектр ЭПР становится чувствительным к конформационной подвижности макромолекулы.

**Глава вторая** посвящена материалам и методам исследования, даны основные характеристики кристаллического холестерина, янтарной, лимонной, аскорбиновой, ацетилсалациловой, хенодезоксихолевой кислот, а также физраствора и спиновой метки нитроксильного радикала. Коротко описаны использованные в работе приборы для определения pH, показания преломления, растворимости холестерина и спиновой метки (ЭПР марки РЭ – 1306). Растворимость холестерина в жизненно важных органических кислотах (лимонной, янтарной, аскорбиновой) определялась ферментативным – колориметрическим методом, фотоколориметрическим исследовано содержание холестерина, а затем  $\text{CaCl}_2$  в системе  $\text{CaCl}_2$  – холестерин –  $\text{H}_2\text{O}$ . В качестве спиновых меток диссертант использовал нитраксильный радикал, в котором дана химическая структура и методика его использования.

**Глава третья.** Обсуждены результаты по изучению влияния концентрации янтарной, лимонной и аскорбиновой кислот на изменения pH и показателей преломления в среде физраствора, так как органические кислоты в определенной степени влияют на кислотно-щелочную среду организма. Исследование изменения pH проводилось при  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ , при близкой к температуре организма человека. Установлено, что минимальная концентрация исследуемых кислот влияет на значение концентрации ионов водорода физиологического раствора, то есть pH физраствора от нейтральной среды переходит в слабокислую  $\text{pH} - 6,97 \rightarrow \text{pH} - 4,0$ .

Несомненно, большой практический интерес представляют данные, как влияют смеси композиций органических кислот на физраствор. Выявлено, что значения pH независимо от композиции концентраций указанных кислот остаются на одном и том же уровне, как и в случаях, когда эти кислоты брались в отдельности.

Растворимость холестерина в органических кислотах определена ферментативным – колориметрическим методом. Отмечено, что добавление кислот приводит к увеличению растворимости холестерина. По эффекту влияния на растворимость холестерина кислоты располагаются в следующий

ряд: лимонная > янтарная > аскорбиновая. Максимальное растворение холестерина наблюдается в лимонной кислоте. Результаты, полученные по растворимости холестерина в органических кислотах, безусловно, так же, представляют практический интерес для медицины.

Известно, что одной из причин дестабилизации жёлчи при ЖКБ является перенасыщение ее холестерином и образование холестериновых камней. Соискателем установлено, что холестериновые камни в основном состоят из холестерина и солей кальция. Поэтому для понимания механизмов дестабилизации стабильной жёлчи и образования холестериновых камней изучена система  $\text{CaCl}_2$  – холестерин –  $\text{H}_2\text{O}$ . Исследования показали, что при концентрации  $\text{CaCl}_2$  от 0 до 20 % холестерин не взаимодействует с  $\text{CaCl}_2$ . При концентрации выше 20 % хлорид кальция образует с холестерином двойную соль состава:  $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{OH} \cdot 0,8 \text{ CaCl}_2$ .

**Глава четвертая.** Исследована молекулярная структура холестерина методом спиновой метки. Показано, что спиновая метка радикала (I) в растворе вращается свободно с временем корреляции  $\tau_c \geq 1,54 \cdot 10^{-8} \text{ с}$  и все 3 компонента сигнала ЭПР по интенсивности одинаковы и симметричны. Для спин-меченого холестерина спектр ЭПР отличается, он затормаживается, а время корреляции в данном случае  $\tau_c \leq 9,9 \cdot 10^{-7} \text{ с}$ , что свидетельствует о взаимодействии молекулы холестерина с радикалом.

При введении в систему II НР+ЭТ+ХЛ лимонной, янтарной и ацетилсалициловой кислот происходит межмолекулярное и внутримолекулярное взаимодействие этих кислот с молекулами холестерина, о чём свидетельствуют показания времени корреляции вращения молекул « $\tau_c$ » по сравнению с системой. Погружение в аскорбиновую кислоту системы II НР+ЭТ+ХЛ приводит значение « $\tau_c$ » к нулю, то есть аскорбиновая кислота поглощает нитроксильный радикал, что ещё раз свидетельствует об её антиоксидантном свойстве. Результаты исследований показали, что изученные органические кислоты по – разному влияют на меж – и внутримолекулярную структуру холестерина. Вероятно, такое взаимодействие зависит от химической структуры указанных кислот.

Кроме того, установлено, что метод нитроксильной спин метки можно использовать, когда раствор холестерина в этаноле образует стабильный комплекс с хенодезоксихолевой кислотой. Обнаружение доменов холестерина в растворе этанола открыло путь к количественному исследованию таких предметов и их взаимодействия с хенодезоксихолевой кислотой и другими молекулами в модели и биологических мембранах.

**Практическая ценность результатов исследования.** Полученные данные об изменении рН и растворимости холестерина в различных концентрациях аскорбиновой, янтарной, лимонной и ацетилсалициловой кислот и в их смесях в физиологическом растворе позволили установить количественные критерии по использованию этих органических кислот при гипо – и гиперхолестеринемии. Установлено влияние природы важных органических кислот на надмолекулярную структуру холестерина методом спиновой метки на приборе ЭПР *in vitro*. Результаты представляют интерес для специалистов, работающих в области биомедицины и молекулярной биологии.

**Результаты, полученные диссидентом,** являются новыми, выводы сформулированы аргументировано. Основные положения диссертационной работы отражены в автореферате, а опубликованные работы действительно отражают основное содержание диссертации.

Тем не менее, при чтении автореферата и диссертационной работы **Холовой Ш.А.** возникли следующие замечания.

1. В тексте автореферата диссертации имеются грамматические (стр. 8, 16, 17 и 23) и технические (стр. 10, 13, 15, 18) ошибки.
2. В таблицах 1, 2 автореферата и диссертации приводятся значения показателей преломления исследованных органических кислот в физрастворе, но результаты не обсуждены.
3. В работе отмечено, что присоединение спиновой метки к молекулам или агрегатам сопровождается затормаживанием, увеличением временем корреляции вращения. Изменение этого параметра позволяет оценить эффективный молекулярный объем агрегата, как Вы его оцениваете?
4. Соискателем установлено, что изученные органические кислоты вытесняют метку из агрегатов и взаимодействуют с холестерином, можно ли из полученных результатов определить предположительный состав агрегатов и образующихся комплексов?

По своему содержанию и объему работа **Холовой Шоиры Алимахмадовны** отвечает критериям пункта 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата химических наук, по специальности 02.00.04- физическая химия.

Отзыв обсужден на заседании кафедры физической и коллоидной химии химического факультета Таджикского национального университета 03 сентября 2015 г., протокол № 2 от 03 сентября 2015 г.

**Отзыв составили:**

Заведующая кафедрой физической и коллоидной химии ТНУ, кандидат химических наук, доцент

Давлатшоева

Джахонгул Асанхоновна

доктор химических наук,  
профессор кафедры физической и коллоидной химии Таджикского национального университета

Рахимова Мубаширхон

Адрес: 734025, г. Душанбе, пр. Рудаки, 17, Таджикский национальный университет, химический факультет. E-mail: [kfk1964@mail.ru](mailto:kfk1964@mail.ru)  
тел. 938-98-96-62

Подписи заведующей кафедры физической и коллоидной химии, к.х.н., доцента Давлатшоевой Джаконгул Асанхоновны, д.х.н., профессора кафедры физической и коллоидной химии химического факультета Таджикского национального университета, Рахимовой Мубаширхон

**заверяю:**

Начальник отдела кадров  
Таджикского национального университета

Сироджиддини Эмомали

«04» 09 2015 г.

