

ԿԱՐԾԻՔ

Ադրինե Դավիթի Սահակյանի “Սելենորգանական միացությունների հակաօքսիդիչ ազդեցության քիմիական մեխանիզմը” թեմայով թեկնածուական ատենախոսության վերաբերյալ, ներկայացված “Բ.00.04 – ֆիզիկական քիմիա” մասնագիտությամբ քիմիական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման համար

Ադրինե Դավիթի Սահակյանի ատենախոսական աշխատանքը նվիրված է մարդու օրգանիզմի կենսագործունեության համար կարևոր միկրոտարրերից մեկի՝ սելենի միացությունների կենսաքիմիական դերի և ազդեցության քիմիական մեխանիզմի բացահայտմանը, առանձնապես կենտրոնանալով դրանց հակաօքսիդիչ հատկությունների վրա: Հայտնի է, որ օքսիդացումը կենդանի օրգանիզմում անընդհատ ընթացող և բնականոն գործընթաց է, որի շեղումը, հատկապես դեպի մեծաքանակ ազատ ռադիկալների գոյացումը, հանգեցնում է այսպես կոչված օքսիդացումային սթրեսի: Ազատ ռադիկալները հատկապես մեծ վնաս են հասցնում բջջային թաղանթներին, դրանց հիմնական բաղադրիչ կազմող լիպիդներին՝ խախտելով բջիջների ամբողջականությունը, հարուցելով տարբեր ոչ ցանկալի կենսաքիմիական փոփոխություններ: Նման պայմաններում անհրաժեշտություն է ծագում մարդու օրգանիզմի կողմից ստեղծվող, այսինքն կենսածին հակաօքսիդիչներից բացի օգտագործել նաև սինթետիկ հակաօքսիդիչներ, որոնց թվում կան նաև սելենի մի շարք միացություններ: Դրանցից մի քանիսն արդեն կիրառվում են որպես դեղամիջոցներ՝ հակաօքսիդիչներ, քաղցկեղաստատիկներ, հավիրուսային, հակամանրէական պատրաստուկներ: Միաժամանակ հայտնի է, որ սելենի շատ միացություններ թունավոր են և օրգանիզմում դրանց չափաքանակները ենթակա են խիստ սահմանափակումների ու վերահսկման: Մյուս կողմից, ինչպես գրականական տվյալների վերլուծության արդյունքում նշում է հայցորդը, օքսիդացման գործընթացներում այդ միացությունների դրական կամ բացասական ազդեցության քիմիական մեխանիզմները բավարար մակարդակով բացահայտված չեն առկա գրականության մեջ:

Ատենախոսական աշխատանքի հեղինակի առաջ խնդիր էր դրվել բացահայտել արդեն օգտագործվող և տվյալ հետազոտության իրականացման համար հատուկ սինթեզված մի շարք սելենօրգանական միացությունների հակաօքսիդիչ-հակառադիկալային հատկությունները, օգտագործել ժամանակակից հետազոտական եղանակներ՝ դրանց քանակապես բնութագրող մեծությունը՝ հակառադիկալային տարողությունը որոշելու համար, առաջարկել հիմնավորված քիմիական մեխանիզմներ՝ հիմնվելով չափված բնութագրերի և տարբեր եղանակներով բացահայտված արգասիքների ցանկի վրա:

Աշխատանքը շարադրված է 115 տպագրական էջերի վրա, բաղկացած է ներածությունից, 5 գլխից, եզրակացություններից, 156 հղում պարունակող օգտագործված գրականության ցանկից, ներառում է 54 նկար և 7 աղյուսակ:

Ներածական մասում հեղինակը հակիրճ շարադրել է ընտրված ուղղության արդի վիճակը, առկա հիմնահարցերը, որոնց վրա կառուցել և հիմնավորել է խնդրի այժմեականությունը, աշխատանքի նպատակը, գիտական նորույթը և այլ պահանջվող դրույթներ:

Առաջին գլխում հայցորդը վերլուծել է ընտրված գիտական ուղղության հետ առնչվող ժամանակակից գրականական տվյալները, քննարկել օրգանիզմում ընթացող օքսիդացման պրոցեսներում ազատ ռադիկալների, թթվածնի ակտիվ ձևերի առաջացման մեխանիզմները, դրանց ազդեցության թե դրական և թե բացասական հետևանքները, լիպիդների պերօքսիդացման մեխանիզմը և դրա հետևանքները, օքսիդացումային սթրեսի առաջացման պատճառները, ծանոթացրել օրգանիզմում պաշտպանական դեր խաղացող հակաօքսիդիչ նյութերի մի մեծ դասի հետ: Գրական ակնարկի մի զգալի մաս նվիրված է սելենի քիմիական միացություններին, օրգանիզմի համար դրանց կենսաբանական նշանակությանն ու դերին, ինչը հանգեցրել է տրամաբանական եզրահանգման. ոչ կենսածին, որոշակի կառուցվածքով սելենօրգանական միացություններ ցուցաբերում են բավարար կենսահամատեղելիություն, ավելի քիչ թունավոր են օրգանիզմի համար և հեռանկարային են որպես կենսահակաօքսիդիչներ կիրառելու տեսանկյունից:

Երկրորդ գլխում թվարկված են օգտագործված քիմիական նյութերը, սարքավորումները և փորձերի իրականացման եղանակները: Ատենախոսական աշխատանքում օգտագործված տասից ավելի հետազոտական եղանակների և ժամանակակից սարքավորումների թվարկումը միայն վկայում են առաջադրված խնդրի լուծման նկատմամբ հայցորդի ցուցաբերած պատասխանատվության և նպատակասլացության մասին: Հեղինակն ինքն իր արդյունքները ստուգելու և ավելի համոզիչ դարձնելու համար համադրել է մի քանի եղանակներով, ինչպես նաև տարբեր (ջուր կամ կենսաբանական) միջավայրերում կատարված փորձերի արդյունքները: Ավելին, որպեսզի ստացված արդյունքները չմասնավորեցվեն կոնկրետ նյութի, այլ ընդհանրացվեն սելենօրգանական նյութերի որոշակի դասի համար, հետազոտության առարկա մեկ տասնյակից ավելի նյութերից հինգը սինթեզվել և միջուկային մագնիսական ռեզոնանսային սպեկտրաչափական եղանակով նույնականացվել են, համագործակցելով ՀՀ ԳԱԱ Օրգանական և դեղագործական քիմիայի գիտատեխնոլոգիական կենտրոնի հետ: Բացի դրանից, սելենի յուրահատկությունները բացահայտելու նպատակով հետազոտվող նյութերի ցանկում ներառվել են ևս երկու սուլֆօրգանական նմանակ միացություններ, որոնցում սելենի ատոմը պարզապես փոխարինված է ծծմբով:

Երրորդ գլուխը նվիրված է դիֆերենցիալ իմպուլսային, ցիկլիկ և քառակուսաալիքային վոլտամպերաչափական եղանակներով սելեն- և սուլֆօրգանական միացությունների հակաօքսիդիչային ակտիվությունների, վոլտամպերային քանակական բնութագրիչների որոշմանը: Վոլտամպերագրամների վրա մի քանի պիկերի միաժամանակյա առկայությամբ հաստատվել է օքսիդացման հաջորդական մեխանիզմի հնարավորությունը,

պիկերի մեծությունների գնահատումները թույլ են տվել միացությունները դասակարգել ըստ օքսիդիչ ունակության: Վերը նշված փոխլրացնող եղանակներով կատարված չափումների արդյունքների բավարար համընկնելիությունը թույլ է տվել հեղինակին հիմնավորել հետազոտված նյութերի հակառադիկալային ակտիվության փաստը:

Չորրորդ գլխում սելենօրգանական միացությունների հակառադիկալային ակտիվություններն ուսումնասիրվել են դրանց և 2,2'-դիֆենիլ-1-պիկրիլ հիդրազիլ (DPPH) կայուն ազատ միջև ռեակցիաների կինետիկական կորերի վերլուծության հիման վրա: Ընդ որում, հակառադիկալային ունակություն սելենոֆենի, թիոֆենի և դրանց ամինոկարբոնիտրիլ ածանցյալների մոտ բացահայտվել է առաջին անգամ:

Նմանատիպ մոտեցում կիրառվել է հետազոտվող միացությունների հակապերօքսիդիկալային տարողությունների որոշման համար: Այս դեպքում հետազոտվել են ֆլուորեսցենի և ջրալուծ ազոհարուցչի՝ 2,2'-ազո-բիս(2-ամիդինոպրոպան) հիդրոքլորիդի (AAPH) քայքայումից թթվածնի ներկայությամբ ստացված պերօքսիդային ռադիկալների միջև ռեակցիաների կինետիկական կորերը:

Վերլուծելով նշված երկու մոտեցումների հիման վրա ստացված հակառադիկալային տարողությունների թվային արժեքների զգալի տարբերությունները, հայցորդի կողմից առաջադրվել են հիմնավորված մեխանիզմներ, որոնք թույլ են տալիս բացատրել գրանցված տվյալները հիմնվելով հետևյալ փաստերի վրա. ա) հակաօքսիդիչի մոլեկուլում առկա ֆունկցիոնալ խմբերը ներգրավվում են ազատ ռադիկալների հետ փոխազդեցությանը, բ) այդ խմբերի ազդեցությամբ փոփոխվում (նվազում) են ատոմների օքսիդացման պոտենցիալները, գ) փորձարկվող կայուն ռադիկալներն օժտված են խիստ տարբերվող ռեակցիոնունակություններով:

Առաջադրվել են մի շարք միացությունների (դիմերիլսելենօքսիդ, սելենոֆեն և այլն) և ROO* պերօքսիդային ռադիկալի փոխազդեցության հիմնավոր մեխանիզմներ:

Հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ բջջային թաղանթի հիմական մաս հանդիսացող լիպիդները ևս ենթակվում են փոխարկումների՝ ակտիվ պերօքսիդային ռադիկալների ազդեցությամբ, ինչը կարող է խաթարել թաղանթի կառուցվածքը և ամբողջականությունը, առանձին ուշադրություն է դարձվել ընտրված սելենօրգանական միացությունների հակաօքսիդիչ ակտիվությանը մոդելային լիպիդի՝ մեթիլլինոլեատի պերօքսիդացման շղթայական ազատ ռադիկալային ռեակցիայում: Այստեղ ևս, մեթիլլինոլեատի օքսիդացման կինետիկական տվյալների վերլուծությամբ ցույց է տրվել, որ տվյալ սելենօրգանական միացություններն օժտված են ընդգծված հակառադիկալային ակտիվությամբ, ինչը հանգեցնում է լիպիդների օքսիդացման շղթայական ռեակցիայի արգելակման: Ընդ որում, կինետիկական չափումներում օգտագործելով նաև BHT անվանումով դասական հակաօքսիդիչ 2,6-դիտրետրոբիլ-մեթիլ ֆենոլը, հետազոտված հակաօքսիդիչները դասակարգվել են ըստ հակառադիկալային/հակաօքսիդիչ ակտիվության:

Ատենախոսության հինգերորդ գլխում ուսումնասիրվել են հետազոտության առարկա սելենօրգանական միջությունների հակահիդրոպերօքսիդային ակտիվությունները, ելնելով այն փաստից, որ թթվածնով լիպիդների օքսիդացման գործընթացների հիմնական թունավոր արգասիքները հիդրոպերօքսիդներն են: Որպես մոդելային հիդրոպերօքսիդ կիրառվել է կումոլի հիդրոպերօքսիդը: Նպատակ ունենալով նաև պարզաբանել սելենօրգանական միացություն – հիդրոպերօքսիդ փոխազդեցության քիմիական մեխանիզմը, ինչն անհնար կլիներ առանց միջանկյալ նյութերի և վերջնական արգասիքների հավաստի նույնականացման, հայցորդը ներգրավել է հետազոտական այնպիսի նորագույն եղանակներ, ինչպիսիք են գազային քրոմատոգրաֆիական-մասս սպեկտրաչափական և բարձրարդյունավետ հեղուկային քրոմատոգրաֆիան, Ֆուրյե ձևափոխմամբ ինֆրակարմիր (ՖԶ-ԻԿ), միջուկային մագնիսական ռեզոնանսային (ՄՄՌ) և էլեկտրոնային պարամագնիսական ռեզոնանսային (ԷՊՌ) սպեկտրաչափությունները: Հետազոտման ենթակա ռեակցիաներում ազատ ռադիկալների էլքը որոշելու համար հայցորդը կիրառել է ևս երկու մոտեցում. ինհիբիտորների և սպինային որսիչների եղանակները: Առաջին եղանակի դեպքում ֆլյուորեսցենտային սպեկտրաչափության եղանակով գրանցելով ինհիբիտոր նեոդոն-D-ի ֆլյուորեսցենտային ազդանշանը, իսկ երկրորդ դեպքում՝ ԷՊՌ սպեկտրաչափության եղանակով գրանցելով որպես սպինային որսիչ օգտագործվող DMPO-ի ազատ ռադիկալի հետ ռեակցիայում նիտրօքսիլ կայուն ռադիկալի հնարավոր առաջացումը, ստացվել է նույն արդյունքը՝ հակաօքսիդիչ – կումոլի հիդրոպերօքսիդ փոխազդեցությունը չի հանգեցնում ազատ ռադիկալի առաջացման: Այսպիսով, կատարված փորձարարական հետազոտություններով հաստատվել է օգտագործված սելենօրգանական միացությունների բարձր հակահիդրոպերօքսիդային ակտիվությունը:

Այս բաժնում կատարված փորձարարական հետազոտությունների արդյունքների վերլուծության հիման հեղինակին հաջողվել է առաջին անգամ առաջադրել քիմիական մեխանիզմ, որը բացահայտում է սելենօրգանական միացությունների հակահիդրոպերօքսիդային ազդեցությունը: Այն հաստատում է փորձարարական եղանակներով նույնականացված սելենօրգանական հակաօքսիդիչ – կումոլի հիդրոպերօքսիդ ռեակցիայի հիմնական արգասիքների առկայությունը, ինչպես նաև հավաստում է, որ ներկայացված սխեմայի յուրաքանչյուր փուլում սելենը հանդես է գալիս որպես երկէլեկտրոնային վերականգնիչ:

Ատենախոսությունն ավարտվում է եզրակացություններով, որոնցում խտացված ձևով ներկայացված են աշխատանքի հիմնական ձեռքբերումները:

Ներկայացված ատենախոսության վերաբերյալ միակ դիտողությունը վերաբերվում է շարադրանքին: Հատուկ ցանկանում եմ շեշտել, որ ամբողջ աշխատանքը շարադրված է գրագետ, տրամաբանաված և հիմնականում հեշտ ընթեռնելի ոճով: Սակայն երբեմն

հանդիպում են այնպիսի երկարաշունչ նախադասություններ, որոնցում արտահայտված մտքերն ըմբռնելու համար կարիք է լինում բավականին երկար ժամանակ ծախսել:

Առավել կարևոր էմ համարում նշել այս հետազոտական աշխատանքի արդյունքում ծագած նոր հարցադրումների մասին, որոնք վկայում են ոչ թե դրանց դեռևս չլուծված մնալու, այլ, իմ կարծիքով, բացված հետազոտական նոր հնարավորությունների մասին:

Առաջին, աշխատանքում ստացված արդյունքները կարելի է համարել որոշակի ներդրում սելենօրգանական միացությունների քիմիայում, հատկապես դրանք որպես հակաօքսիդիչներ կիրառման տեսանկյունից: Այդ ուղղությամբ առաջին քայլերն արդեն արված են և ցանկալի է ընդլայնել հետազոտվող նյութերի շարքը, այդ թվում օգտվելով ներկայումս լայնորեն կիրառվող նյութերի կենսաքիմիական ակտիվության համակարգչային մոդելավորման (այսպես կոչված “drug design”-ի) հնարավորություններից:

Երկրորդ, իրականացված է մեծածավալ *in vitro* հետազոտություն, հետազոտված նյութերի համար ստացվել են արժեքավոր քիմիական և կենսաքիմիական բնութագրեր: Ակնհայտ է, որ դրանց վերջնական նպատակը մարդու առողջ ապրելակերպին ծառայեցնելն է, ինչը ենթադրում է անցում հաջորդ քայլին՝ *in vivo* հետազոտություններին: Այս փուլի աշխատանքները շատ հետաքրքիր կլինեն կենսաբանության և բժշկության ապարեզում հետազոտություններ իրականացնող մասնագետների համար և ներկայումս կան բոլոր հնարավորությունները նոր համագործակցության եզրեր գտնելու նրանց հետ, այդ թվում նաև միջազգային մակարդակով: Ծանոթանալով այս ուղղությամբ մեր ինստիտուտում աշխատող մասնագետների փորձառությանը, կիրառվող սարքավորումների ու հետազոտական եղանակների ցանկին, կարծում եմ, շատերի մոտ ցանկություն կառաջանա համագործակցելու:

Ամփոփելով, կարելի է գրանցել, որ առաջին անգամ իրականացվել է սելեն- և սուլֆօրգանական միացությունների մի մեծ խմբի հակառադիկալային, հակապերօքսիդիկալային, հակաօքսիդիչ ակտիվության որոշման հիմնարար և համակարգված հետազոտություն: Միացությունների ընտրությունը կատարված է նպատակասլաց գնահատելու դրանց մոլեկուլներում տարբեր ատոմների (սելեն, ծծումբ) և ֆունկցիոնալ խմբերի ազդեցությունը հակաօքսիդիչ հատկությունների վրա, գտնելու ուղիներ, որոնք թույլ կտան մոլեկուլի բաղադրության կանխատեսելի փոփոխությամբ հասնել առավել բարձր ցուցանիշների: Տարբեր եղանակների համադրությամբ որոշվել են հետազոտված սելեն- և սուլֆօրգանական միացությունների հակաօքսիդիչ տարողությունները, տրված են դրանց արժեքների տարբերության հիմնավորված բացատրություններ, քիմիական մեխանիզմների առաջադրումն իրականացված է ռադիկալաշղթայական ռեակցիաների առանձնահատկությունների և ստացված արդյունքների մանրակրկիտ վերլուծությունների հիման վրա:

Կատարված է բարձր գիտական մակարդակով և մեծածավալ փորձարարական աշխատանք, որի նպատակներին հասնելու համար օգտագործվել են ժամանակակից հետազոտական եղանակներ ու սարքավորումներ, ստացված տվյալների ճշգրտությունը և հավաստիությունը կասկած չի հարուցում:

Հրատարակված վեց գիտական հոդվածների և երեք գիտաժողովների նյութերն ամբողջությամբ ներառված են ատենախոսության մեջ, իսկ սեղմագիրն ամբողջապես արտահայտում է ատենախոսության բովանդակությունը:

Գտնում եմ, որ ատենախոսական աշխատանքն իր արդիականությամբ, ծավալով և գիտական նորույթով համապատասխանում է ՀՀ ԲԿԳԿ-ի կողմից քիմիական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման համար ատենախոսական աշխատանքներին ներկայացվող պահանջներին, իսկ դրա հեղինակը՝ Ադրինե Դավիթի Սահակյանն արժանի է Բ.00.04 «Ֆիզիկական քիմիա» մասնագիտությամբ քիմիական գիտությունների թեկնածուի աստիճանի շնորհմանը:

Քիմիական ֆիզիկայի ինստիտուտի
փոխտնօրեն գիտության գծով, ք.գ.թ.՝



Ա.Բ. Հարությունյան

Ք.գ.թ. Ա.Բ. Հարությունյանի ստորագրությունը հաստատում եմ՝
ՀՀ ԳԱԱ Ա.Բ. Նալբանդյանի անվան Քիմիական ֆիզիկայի
ինստիտուտի գիտքարտուղարի պաշտոնակատար



Լ.Հ. Սեդրակյան
06.12.2023 թ.