

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Российский химико-технологический университет
имени Д. И. Менделеева»**

На правах рукописи



Пхью Мьинт У

**Антиоксидантные свойства растительных и микробных
препаратов и их практическое применение**

1.5.6. Биотехнология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
доктора химических наук

Москва – 2026

Работа выполнена на кафедре биотехнологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева».

Научный консультант - доктор технических наук, профессор **Панфилов Виктор Иванович**, зав. кафедрой биотехнологии РХТУ им. Д. И. Менделеева.

Официальные оппоненты: **Лодыгин Алексей Дмитриевич**, доктор технических наук, заведующий кафедрой прикладной биотехнологии факультета пищевой инженерии и биотехнологий имени академика А.Г. Храмцова ФГБОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

Лупанова Ирина Александровна, доктор биологических наук., руководитель Центра доклинических исследований ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений»

Китаевская Светлана Владимировна, доктор технических наук., и.о. заведующего кафедрой пищевой биотехнологии Института пищевых производств и биотехнологии ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет»

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого».

Защита диссертации состоится «_08_» сентября 2026 года в 11:00 на заседании диссертационного совета РХТУ Р.17 в конференц-зале (ауд. 443) Миусского комплекса федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» (125047, г. Москва, Миусская пл., д.9).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре РХТУ им. Д.И. Менделеева и на сайте федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»
https://muctr.ru/university/departments/ods/inhouse/inhouse_announcements/

Автореферат диссертации разослан « ____ » _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
РХТУ Р.17, кандидат биологических наук


Евдокимова С.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. По статистике Всемирной организации здравоохранения окислительный стресс является причиной более 80% неинфекционных заболеваний от сердечно-сосудистых до онкологических и нейродегенеративных. Известно, что увеличение попадания в окружающую среду и в организм человека реакционно-активных веществ способно инициировать образование окислительного стресса за счет свободных радикалов, это создает необходимость выяснения механизмов воздействия таких веществ и продуктов их реакций на модельные биологические системы и использование результатов в практических целях.

Известно, что растительные и микробиологические препараты обладают мощным антиоксидантным действием, превосходя синтетические аналоги по биодоступности и экологичности. Поэтому в настоящее время широко изучаются природные растительные вещества с антиоксидантным потенциалом, которые инактивируют радикалы и снижают их токсичность. Однако, несмотря на известные антиоксидантные свойства кумаринов и флавоноидов, их радиопротекторный потенциал, особенно в комплексе с наночастицами и в составе сложных экстрактов с использованием клеточной модели, изучен недостаточно.

Воздействие ионизирующих излучений на биологические объекты является темой широкомасштабных исследований, в которых изучается как непосредственное воздействие на биообъекты на разных уровнях их организации, так и отложенные последствия облучения. Все виды ионизирующего излучения приводят к широкому спектру биологических изменений, затрагивая биохимические и молекулярно-биологические аспекты функционирования клеток. Репрезентативными объектами для изучения воздействия ионизирующего облучения и других стрессовых воздействий считаются клетки микроорганизмов-эукариот. Дрожжи рода *Saccharomyces* являются именно такими хорошо изученными модельными организмами, и в настоящей работе они используются для изучения протекторных эффектов различных препаратов природного происхождения при воздействии ионизирующего излучения и других стрессоров.

Цель работы – выявление и оценка антиоксидантной и радиопротекторной активности растительных экстрактов и индивидуальных соединений кумаринового ряда в условиях окислительного стресса, индуцированного ионизирующим излучением с использованием клеток дрожжей р. *Saccharomyces* в качестве тест-системы.

Задачи исследования:

- Определение антиоксидантной и антирадикальной активности растительных экстрактов лекарственных растений, а также отдельных реагентов при воздействии ионизирующего излучения и других индукторов окислительного стресса.
- Оценка радиопротекторной активности водных растворов кумаринов, выделенных из экстрактов донника, лабазника и багульника.
- Применение дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* как тест-систем для выявления и оценки потенциальных радиопротекторов среди полученных экстрактов.
- Проверка возможности адаптации дрожжей *S. cerevisiae* к пероксиду водорода.
- Оценка влияния видимого освещения облучаемого биологического материала на повреждающее и стерилизующее действие ионизирующего излучения.
- Оценка влияния различных химических реагентов на выживаемость дрожжей р. *Saccharomyces* до и после облучения.
- Анализ перекрестных ответных реакций микроорганизмов на стрессы, индуцированные рентгеновским облучением и действием активных форм кислорода.
- Оценка влияния биосинтезированных наночастиц серебра и селена на основе растительных экстрактов на жизнеспособность *S. cerevisiae* до и после рентгеновского облучения.

Объекты исследований – экстракты природных лекарственных растений: багульника болотного (*Ledum palustre*), донника лекарственного (*Melilotus officinalis*), каркаде (*Hibiscus sabdariffa*), лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria*) и муррайи метельчатой (*Murraya paniculata*), полученной из Республики СоюзМьянма, синтетические фенольные соединения (кумарин, ионол, дигидрокумарин, эскулетин, эскулин, скополетин, умбеллиферон), наночастицы селена и серебра, а также микроорганизмы – дрожжи р. *Saccharomyces*.

Предмет исследований – антиоксидантная и радиопротекторная активности растительных и микробных препаратов, а также особенности их воздействия на биологические объекты с использованием клеток дрожжей р. *Saccharomyces* в качестве тест-системы для последующего применения в медицине, пищевой промышленности и агропромышленном комплексе.

Методология и методы исследований – в основе исследований лежат современные представления о механизмах окислительного стресса, антиоксидантной защите организма и роли природных (растительных и микробных) соединений в

нейтрализации свободных радикалов. Подход основан на системном и комплексном анализе биохимических, физиологических и фармакологических свойств природных препаратов, а также на принципах доказательной медицины и биотехнологии. Исследования проводили на базе РХТУ им. Д.И. Менделеева с применением спектрофотометрических, хроматографических, хромато-масс-спектрометрических методов, оптической микроскопии, а также с использованием рентгеновской установки и ряда других экспериментальных установок. Аналитические методики, используемые в работе, соответствуют требованиям государственных стандартов Российской Федерации (ГОСТ).

Научная новизна полученных результатов заключается в следующих положениях:

- Предложена и научно обоснована методика тестирования растительных экстрактов и соединений кумаринового ряда на предмет выявления антиоксидантной активности с использованием клеток дрожжей р. *Saccharomyces* в качестве тест-системы.

- Предложен способ повышения радиационной устойчивости дрожжей-сахаромицетов (*Saccharomyces cerevisiae*) к воздействию ионизирующего излучения на который получено «ноу-хау». Способ заключается в предварительной обработке клеток дрожжей биологически активным веществом рутином (витамином Р) в определенной концентрации (0,05 мМ в 40 % и 70% растворе этанола) до и после облучения (0 Гр, 400 Гр, 800, 2000 Гр). Обработка рутином, обладающим выраженными антиоксидантными и мембранопротекторными свойствами, позволяет значительно снизить оксидативный стресс, индуцированный радиацией, и повысить выживаемость клеточной популяции.

- Показано, что при введении ионола с концентрациями 0.5 мМ и 0.05 мМ выживаемость клеток дрожжей *S. cerevisiae* увеличивается почти в 3 раза. Спустя 24 часа после облучения добавление ионола к дрожжам привело к двукратному увеличению выживаемости дрожжей по сравнению с контролем.

- Установлено, что нафталин также проявляет радиозащитное действие в отношении дрожжей *S. cerevisiae* и *S. carlsbergensis*, особенно после внесения пероксида водорода, что подтверждено снижением доли мертвых клеток *S. cerevisiae*. Защитное действие нафталина, возможно, обусловлено его антиоксидантным действием в условиях окислительного стресса, развивающегося в результате перекрестных реакций в ответе клеток дрожжей на действие рентгеновского излучения.

- Установлено, что рутин стабилизирует антирадикальную активность после облучения (ингибирование ДФПГ – 67–86%), а доля мертвых клеток дрожжей составляет 8-12% в зависимости от дозы облучения. Оптимальная защита достигается при концентрации рутина 0,05 мМ в 70% растворе этанола.

- Доказано, что свежеприготовленные водно-спиртовые экстракты лекарственных растений: багульника болотного, донника лекарственного, муррайи метельчатой, каркаде и лабазника вязолистного обладают повышенным антиоксидантным и радиопротекторным действием в отношении дрожжевых клеток сахаромикетов. Присутствие наночастиц серебра, полученных методом «зеленого» синтеза, вызывает токсическое действие на дрожжевые клетки как до, так и после воздействия рентгеновского излучения.

- Показана корреляция между химической структурой соединений и их способностью защищать клетки от оксидативного стресса, вызванного радиацией.

- Впервые установлено, что совместное действие экстракта багульника с наночастицами селена приводит к росту антиоксидантных свойств, увеличивая количество живых клеток дрожжей после облучения, что указывает на возможность использования данной системы, как радиопротекторного препарата.

Теоретическая и практическая значимость.

В ходе выполнения работы решены актуальные проблемы, связанные с радиационной защитой, антиоксидантной терапией и использованием природных и химических соединений для повышения устойчивости биологических систем к стрессовым факторам:

- предложены механизмы радиационного повреждения и восстановления клеток, помогающие углубить фундаментальные знания о взаимодействии физических, химических и биологических факторов;

- проведенная оценка антирадикальной активности веществ и экстрактов растений позволяет лучше понять механизмы нейтрализации активных форм кислорода (АФК) и свободных радикалов. Полученные знания могут быть применены для профилактики и лечения заболеваний, связанных с окислительным стрессом, таких как онкологические, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания;

- экспериментально доказано, что использование дрожжей *S. cerevisiae* и *S. carlsbergensis* как модельных организмов позволяет быстро и эффективно изучать механизмы повреждения и восстановления клеток после радиационного воздействия, а также тестировать эффективность новых защитных веществ;

- применение рутина позволяет значительно повысить выживаемость дрожжевых клеток в широком диапазоне летальных доз облучения;
- показано, что такие растения, как багульник болотный, донник лекарственный, муррайя метельчатая и лабазник могут стать источниками экологически чистых, доступных и эффективных антиоксидантов и радиопротекторов;
- доказано, что экстракт багульника обладает высокими антиоксидантными свойствами благодаря содержанию биологически активных веществ, а образование наночастиц селена значительно усиливает антиоксидантную активность, подавляя образование пероксида водорода.

Результаты экспериментов демонстрируют перспективность использования наночастиц селена для повышения биодоступности и эффективности природных радиопротекторов, что может быть полезно для разработки новых средств защиты от ионизирующего облучения.

Результаты работы могут быть использованы для поиска и разработки новых препаратов на основе растительных экстрактов и химических соединений, которые будут способны эффективно защищать клетки от радиационного повреждения и нейтрализовать воздействие АФК. Это будет способствовать развитию технологий использования местных природных ресурсов для пищевой, медицинской и фармацевтической промышленности Республики Союз Мьянма.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Результаты исследований по реакционной способности различных добавок (кумарины, нафталин, ионол, рутин) и полученных водно-этанольных экстрактов лекарственных растений в реакциях со свободными радикалами (гидроксиэтильный углеродцентрированный радикал,ДФПГ, супероксидный анион-радикал и другие).

2. Антирадикальная активность водно-этанольных экстрактов донника, багульника, муррайи по отношению к гидроксиэтильному углеродцентрированному радикалу связана с наличием кумаринов в их составе, которую можно оценить по изменению концентрации ацетальдегида.

3. Методика тестирования растительных экстрактов и соединений кумаринового ряда на предмет выявления антиоксидантной активности с использованием клеток дрожжей р. *Saccharomyces* в качестве тест-системы.

4. Оценка радиационной чувствительности дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces carlsbergensis* при внесении АФК, этанола, нафталина, ионола, рутина, а также наночастиц серебра и селена.

5. Оценка жизнеспособности дрожжевых клеток *Saccharomyces* при внесении антиоксидантов растительного происхождения экстрактов растений до и после облучения.

Достоверность научных положений и выводов подтверждена высоким методическим уровнем проведения работы, соответствующим объемом экспериментальных данных с использованием современных физико-химических и микробиологических методов исследования с применением современного оборудования, имеющегося в Центре коллективного пользования и на кафедрах РХТУ им. Д.И. Менделеева, а также статистической обработкой полученных данных и их согласованностью с данными в научной литературе.

Работа соответствует паспорту научной специальности ВАК 1.5.6.- Биотехнология (химические науки) по п. 3, п.4, п.11, п.13 и п.25.

Апробация работы. Результаты диссертации представлены на международных и всероссийских конференциях, в том числе на: VII Всероссийском симпозиуме и Школе- конференции молодых учёных «Кинетика и динамика обменных процессов» (2018, г. Сочи); Международной научно-практической конференции «Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность» (2019, 2020, 2021, 2022, 2023, г. Севастополь); Успехи в химии и химической технологии, МКХТ (2019, 2020, 2024, г. Москва), VII международной научно-практической конференции «Биотехнология: наука и практика» (2020, г. Ялта), VI Международной научной конференции УГНТУ в (2021, г. Уфа), Всероссийской конференции с международным участием «Проблемы и Инновационные Решения в Химической Технологии ПИРХТ-2022» (2022, г. Воронеж), International Russian Conference on Ecology and Environmental Engineering (RusEcoCon) (2022, 2023, 2025, г. Сочи), II Всероссийской научно-практической конференции студентов, магистрантов, аспирантов «Современные достижения молодых ученых в биологии, медицине и ветеринарии» (2023, г. Астрахань), XII Международной научной конференции молодых учёных: Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения (2024, г. Москва).

Личный вклад автора

Автор лично проводил поиск и анализ литературных данных, ставил задачи, планировал эксперимент и активно участвовал в его проведении, осуществлял выбор современных биохимических, физико-химических, микробиологических, аналитических методов анализа. Экспериментальные исследования проводились собственноручно или с непосредственным участием автора. Автор проводил

интерпретацию, анализ и обобщение полученных результатов, осуществлял написание научных статей, отчетов, «ноу-хау» и докладов на научных конференциях.

Публикации. Основные положения диссертации получили полное отражение в 25 печатных работах, в том числе в 11 статьях в журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus, Web of Science, Chemical Abstracts и ВАК. Результаты научного исследования подтверждены участием на научных мероприятиях: опубликовано 14 работ в прочих изданиях и материалах всероссийских и международных конференций.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, списка литературы и приложения. Работа изложена на 388 страницах машинописного текста, включающих 127 таблицы и 168 рисунков. Библиографический список представлен 227 наименованиями цитированных работ российских и зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** приведено обоснование актуальности работы, сформулированы цель и задачи работы, отображена научная новизна, теоретическая и практическая значимость, а также апробация результатов работы.

В **первой главе** в разделе 1.1 содержатся литературные сведения об антиоксидантных свойствах различных препаратов: свободно-радикальные реакции окисления биологически-активных веществ и их биологическое действие, методы исследования реакционной способности полифенольных веществ в физической химии, окислительный стресс и влияние препаратов растительного и микробного происхождения на стресс-ответ у микроорганизмов в присутствии и отсутствии кислорода и антиоксидантные свойства рутина, как соединения фенольной природы. В разделе 1.2 представлены сведения о радиоллизе различных биологически-активных веществ и других химических препаратах. В разделе 1.3 приводятся сведения об объектах исследования: строение, биохимические и молекулярно-биологические особенности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces carlsbergensis*, как модельных микроорганизмов, механизмы защиты от АФК. Раздел 1.4 содержит сведения о влиянии различных стресс-факторов на дрожжевые клетки, рассмотрена взаимосвязь ионизирующего излучения и окислительного стресса, а также радиолиз различных биологически-активных веществ и других химических препаратов. Разделы 1.5, 1.6 посвящены получению и свойствам наночастиц серебра и селена, а также

рассмотрено влияние ионов серебра на выживаемость дрожжей рода *Saccharomyces*.

При анализе литературного обзора обоснована необходимость применения добавок различных классов соединений для оценки их реакционной способности, их сравнение с антиоксидантной активностью растительных экстрактов, а также использования дрожжевых клеток *Saccharomyces* как тест-систем для оценки эффективности используемых препаратов в различных стрессовых условиях.

Во второй главе описываются методики получения растительных экстрактов и проведения экспериментов, с использованием экстрактов изучаемых растений и различных добавок (пероксид водорода, нафталин, ионол, медицинский 96% этанол), культивирования дрожжей и оценка их жизнеспособности до и после облучения. В разделе 2.2 приведены методики и аппаратура, использованные в работе. В частности, описаны методы выделения кумаринов из донника и багульника, определение содержания кумарина в доннике с использованием хроматографии, а также исследование реакционной способности кумаринов по их взаимодействию с супероксид-анион-радикалом и углеродцентрированными радикалами в реакции образования гидразона ацетальдегида с 2,4-динитрофенилгидразином. Среди применяемой аппаратуры указаны: хроматограф Waters (США), “Хроматэк-Кристалл 5000” (Россия), спектрофотометр СФ-2000, а также установки для стационарного радиолиза РХМ-γ-20 (мощность поглощенной дозы по дозиметру Фрикке равна 0,079 Гр/с) и облучение на рентгеновской установке Model-КАЛАН 4 (мощность поглощенной дозы по дозиметру Фрикке равна 3 Гр/с) кафедры ИМСЭН-ИФХ, РХТУ им. Д.И. Менделеева. Описаны методики определения протекторных свойств экстрактов растений и различных добавок по их реакционной способности взаимодействовать со свободными радикалами. В разделах 2.3 – 2.7 представлены методики получения устойчивых к пероксиду водорода культур дрожжей *S. cerevisiae* и *S. carlsbergensis*, которые являются хорошо изученными модельными микроорганизмами и их культивирования в присутствии и отсутствии различных добавок. Для определения мёртвых и живых клеток дрожжей использовали оптическую микроскопию, которую проводили с помощью окрашивания клеток метиленовым синим. Для количественного учёта микроорганизмов использовали микрометод Коха на плотных питательных средах, а также описаны аналитические методы Спирина и Кьельдаля. В остальных разделах главы 2 изложены способы приготовления наночастиц серебра и селена, варианты воздействия ионизирующего

излучения, а также различные методы исследования антирадикальной активности и радиопротекторных свойств изучаемых систем.

В третьей главе изложены результаты экспериментов по получению и исследованию реакционно-активных химических веществ, наночастиц серебра и селена, экстрактов из образцов растительного сырья, а также оценки их реакционной способности и радиопротекторной активности до и после воздействия ионизирующего излучения.

На первом этапе работы были проведены эксперименты по получению и аналитическому исследованию растительных экстрактов донника, багульника и муррайи, а также оценки воздействия на них ионизирующего излучения.

Хроматографическое исследование кумаринов и экстрактов донника, багульника, муррайи. Исследование антирадикальной активности кумарина проведено хромато-масс-спектрометрическим анализом раствора кумарина в 5% этаноле, который был насыщен закисью азота и облучён в запаянных ампулах. Возможные продукты радиационно-химического превращения кумарина проанализировали с помощью спектрофотометрического (рисунок 1) и масс-спектрометрического детекторов.

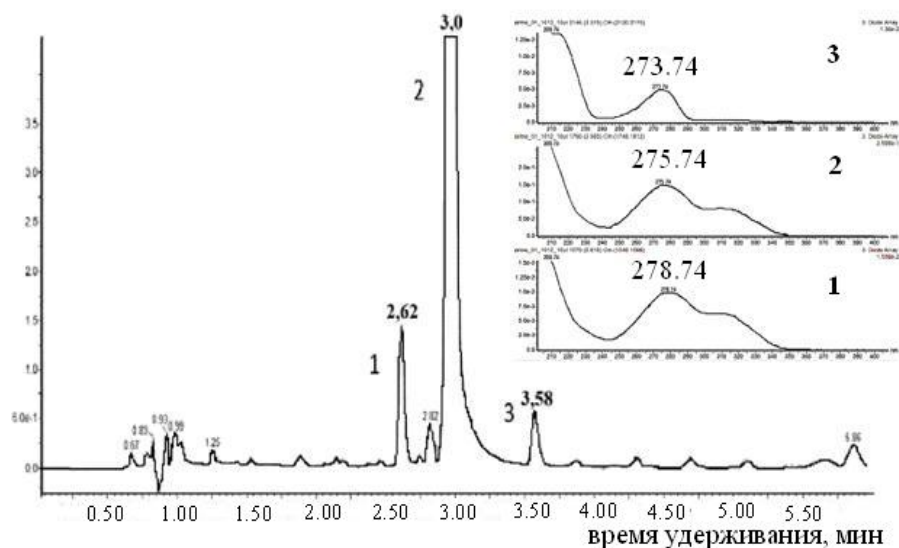


Рисунок 1 – Хроматограмма водного раствора кумарина $c = 10^{-4}$ моль/л в деаэрированном и N_2O -насыщенном этаноле при воздействии $D = 0,57$ кГр; 1 – продукт с временем удерживания 2,62 мин; 2 – кумарин; 3 – продукт с временем удерживания 3,58 мин. На вставке спектры оптического поглощения:

1 – продукт с временем удерживания 2,62 мин; 2 – кумарин;

3 – продукт с временем удерживания 3,58 мин

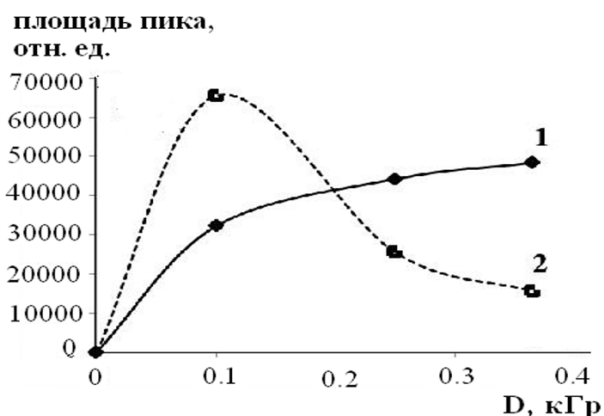
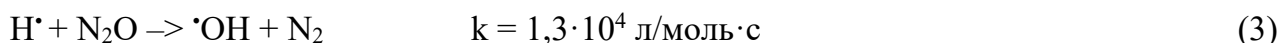


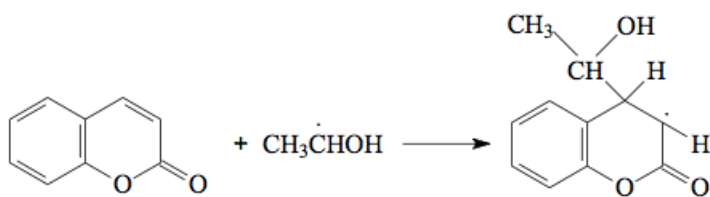
Рисунок 2 – Характер изменения концентрации продуктов стационарного радиоллиза кумарина в зависимости от дозы облучения

Радиационно-химический выход расщедования кумарина составил $G(-C_{\text{Coup}}) = 0.29 \pm 0.02$ молекул/100 эВ при дозе 0,57 кГр. Зарегистрировано образование продуктов радиационно-химического превращения кумарина с временами удерживания 2,62 мин с $m/z = 173$ и 3,58 мин с $m/z = 175$. Также зарегистрирован ещё один пик с временем удерживания 2,82 мин, но его масс-спектр не удалось записать (интенсивность сопоставима с фоном).

В спектре продукта с временем удерживания 3.58 мин имеется полоса поглощения при $\lambda_{\text{max}} = 310\text{--}320$ нм, которая обусловлена наличием двойной связи $C_{(3)}=C_{(4)}$, в то время как у продукта с временем удерживания 2.82 мин эта полоса поглощения отсутствует. На рисунке 2 показан характер изменения концентрации продуктов стационарного радиоллиза кумарина в зависимости от дозы облучения.

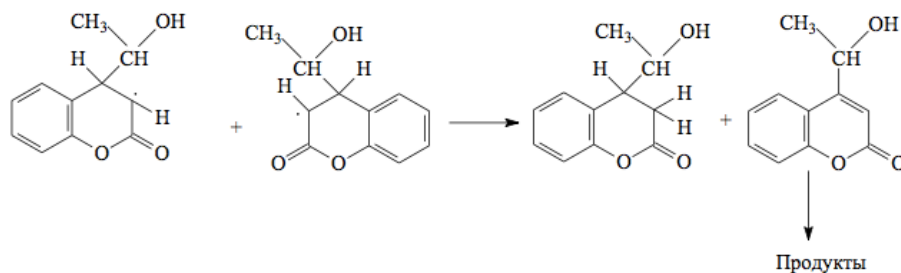
Показано, что концентрация продуктов радиационно-химического превращения кумарина с временем удерживания 2,62 мин в зависимости от дозы имеет экстремальную зависимость, что свидетельствует о его дальнейшем превращении по двойной связи $C_{(3)}=C_{(4)}$. Продукт с временем удерживания 3,58 мин с ростом дозы накапливается в системе, следовательно, производное дигидрокумарина не реакционноспособное и в дальнейших превращениях не принимает участия (рисунок 9). Механизм взаимодействия кумарина с углеродцентрированным радикалом представлен ниже:



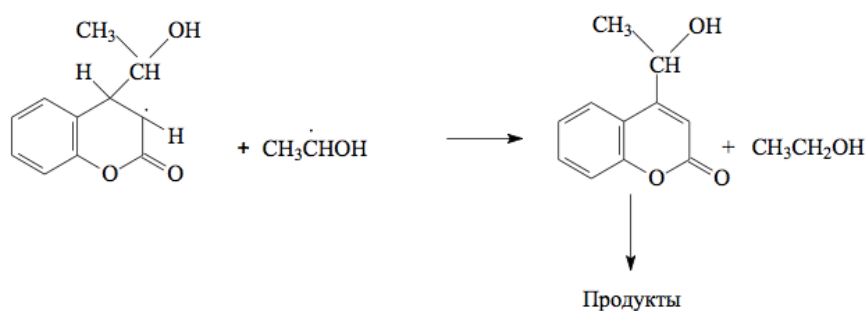


Реакция диспропорционирования:

(5)



(6)



(7)

Газо-хроматографический анализ (рисунок 3) с использованием внутреннего стандарта - нафталина показал, что наибольшая концентрация кумарина содержится в экстракте донника с 30%–40%-ным содержанием этанола, а концентрация дигидрокумарина не зависит от содержания этанола в системе. Наибольшее изменение концентрации кумарина наблюдается при радиоллизе деаэрированного 30% экстракта донника и составляет 28% при дозе 6 кГр. Обнаруженное изменение концентрации кумарина свидетельствует о его участии в свободно-радикальных реакциях.

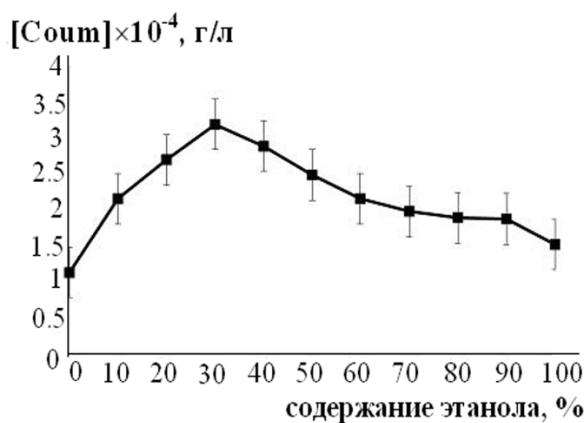


Рисунок 3 – Концентрация кумарина в экстракте донника от содержания этилового спирта

Газо-хроматографически путём определения радиационно-химических выходов ацетальдегида при радиоллизе 70% деаэрированных этанольных экстрактов донника, багульника и муррайи произведена оценка реакционной способности исследуемых экстрактов в реакции с углеродцентрированным радикалом.

При радиоллизе деаэрированного этанола основными молекулярными продуктами являются ацетальдегид (АА) и бутандиол-2,3 (БД):

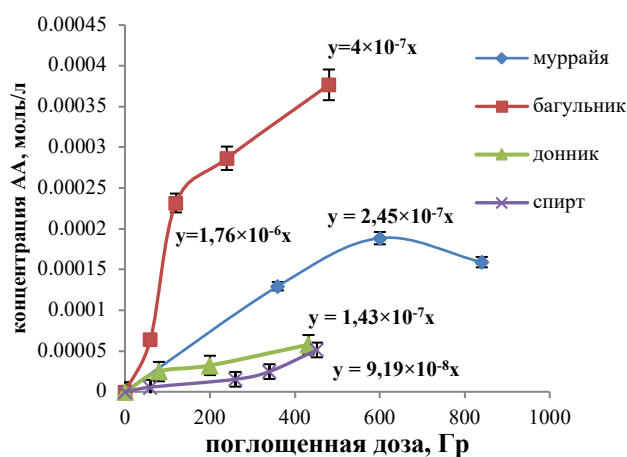
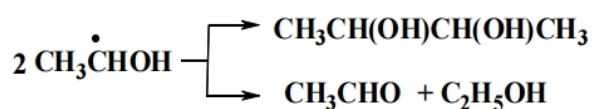


Рисунок 4 – Концентрация ацетальдегида от дозы для экстрактов: 1 – без добавок экстракта (этанол), 2 – донник, 3 – муррайя, 4 – багульник

На рисунке 4 представлены кривые накопления ацетальдегида в системе в зависимости от увеличения поглощённой дозы для трёх исследуемых 70% деаэрированных экстрактов донника, багульника, муррайи. Значения рассчитанных выходов АА по формуле (8) представлены в таблице 1.

$$G_{\text{AA}} = \frac{9,65 \cdot 10^9 \cdot C_{\text{AA}}}{\rho \cdot D}, \quad (8)$$

где C_{AA} – концентрация АА, моль/л; ρ – плотность растворителя, г/л; D – поглощённая доза, Гр.

Таблица 1 – Радиационно-химический выход (G) ацетальдегида в 70% водно-этанольных деаэрированных системах в присутствии и отсутствии экстрактов

Исследуемая система	G, молекул/100эВ	Исследуемая система	G, молекул/100эВ
этанол	1.0	багульник (0–120 Гр)	20.0
донник	1.6	багульник (120–480 Гр)	4.5
муррайя	2.8		

Из литературных данных известно, что максимальное значение радиационно-химического выхода АА не превышает 5.5 молекул/100 эВ. Для багульника в интервале доз от 0 до 120 Гр рассчитан радиационно-химический выход АА, равный ≈ 20 молекул/100 эВ, что может свидетельствовать о свободно-радикальных цепных процессах, происходящих в экстракте после облучения. Можно сделать вывод, что использование багульника в медико-биологической практике возможно только при низких концентрациях.

В деаэрированных 70% водно-этанольных (объем. этанола) экстрактах донника, багульника, муррайи реакционная способность по отношению к углеродцентрированным радикалам, инициированных облучением, оценена по радиационно-химическому выходу ацетальдегида, который уменьшается в ряду багульник > муррайя > донник.

Оценка радиопротекторной активности экстрактов донника и багульника. Выход ионов $[K^+]$ % из дрожжевых клеток, облученных 0,4кГр, при внесении в систему кумаринов, выделенных из экстрактов донника и багульника, по отношению к дрожжевым клеткам расы Феодосия-7 был оценен с помощью рН-метрии.

Известно, что выход ионов калия соответствует радиопротекторной активности: чем меньше концентрация ионов калия, тем больше проявление радиопротекторной способности экстракта растений. Показано, что наибольшей радиопротекторной активностью обладает кумарин, выделенный из донника лекарственного.

На следующем этапе работы были выполнены исследования по получению наночастиц серебра и селена с использованием раствора нитрата серебра и селенита натрия с добавлением экстрактов лекарственных растений и проведено определение их размеров и дзетта-потенциала.

Образование наночастиц проводили методом «зеленого» синтеза, восстанавливая биологически активными веществами водного экстракта растения нитрата серебра ($AgNO_3$) и селенита натрия (Na_2SeO_3).

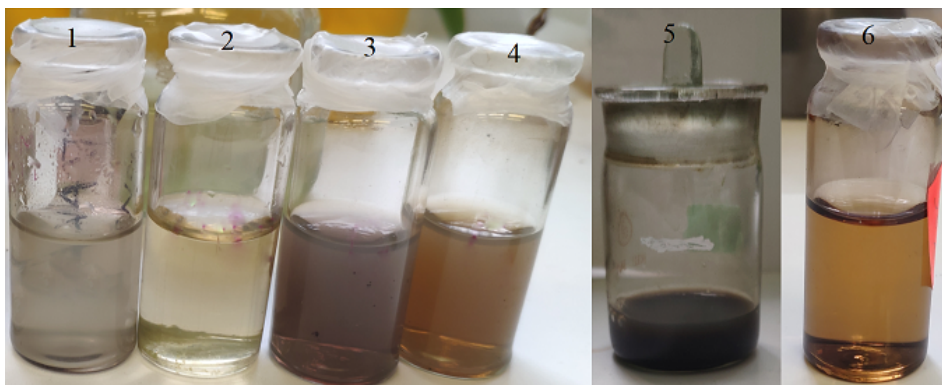


Рисунок 5 – Суспензии наночастиц с багульником болотным через 6 суток
 3 – э.б.б /H₂O/НЧ-Ag, полученный под действием дневного рассеянного видимого света, при использовании 2,5 мл водного экстракта э.б.б 1:100 и 47,5 мл водного раствора AgNO₃ 1 мМ
 6– э.б.б /H₂O/НЧ-Se, полученный под действием дневного рассеянного видимого света, при использовании 600 мкл водного экстракта э.б.б 1:10 21.03.2023 и 7,4 мл водного раствора Na₂SeO₃ 100 мМ

Образование наночастиц в растворах вызывает изменение окраски из-за эффекта рассеяния света поскольку наночастицы имеют размеры, которые соизмеримы с длинами волн видимого света. Чем больше размеры или концентрация наночастиц, тем более темной будет получаемая суспензия.

Средний размер наночастиц и величина их заряда в зависимости от условий синтеза приведена в таблице 2.

Таблица 2 – Размер наночастиц и величина их заряда в зависимости от условий синтеза

№	Условия получения наночастиц	Средний размер, нм	Дзетта потенциал мВ
1	э.б.б/H ₂ O/НЧ-Ag полученный под действием рентгеновского облучения 20 мин	74	-14,5
2	э.б.б/H ₂ O/НЧ-Ag полученный без освещения в	112	
3	э.б.б/H ₂ O/НЧ-Ag полученный под действием дневного рассеянного света	162	-15,1

Показано, что при воздействии рентгеновского облучения средний размер наночастиц равен 74 нм, это меньше, чем под действием дневного рассеянного видимого света. Это может связано с тем, что рентгеновское излучение обладает более высокой энергией, которая может вызывать физические и химические изменения в материале, приводящие к формированию более мелких частиц. Также если после

приготовления раствора препятствовать попаданию света, в связи с замедлением реакции и препятствию коагуляции, то формируются частицы меньшего размера.

Определение реакционной способности экстрактов донника, багульника, муррайи и некоторых кумаринов со стабильным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидрозилом (ДФПГ). Известно, что в доннике содержится кумарин, а в багульнике болотном производные кумарина - эскулетин, эскулин, умбеллиферон, скополетин. Для оценки реакционной способности спиртовых экстрактов лекарственных растений рассчитывали процент ингибирования ДФПГ в зависимости от его концентрации.

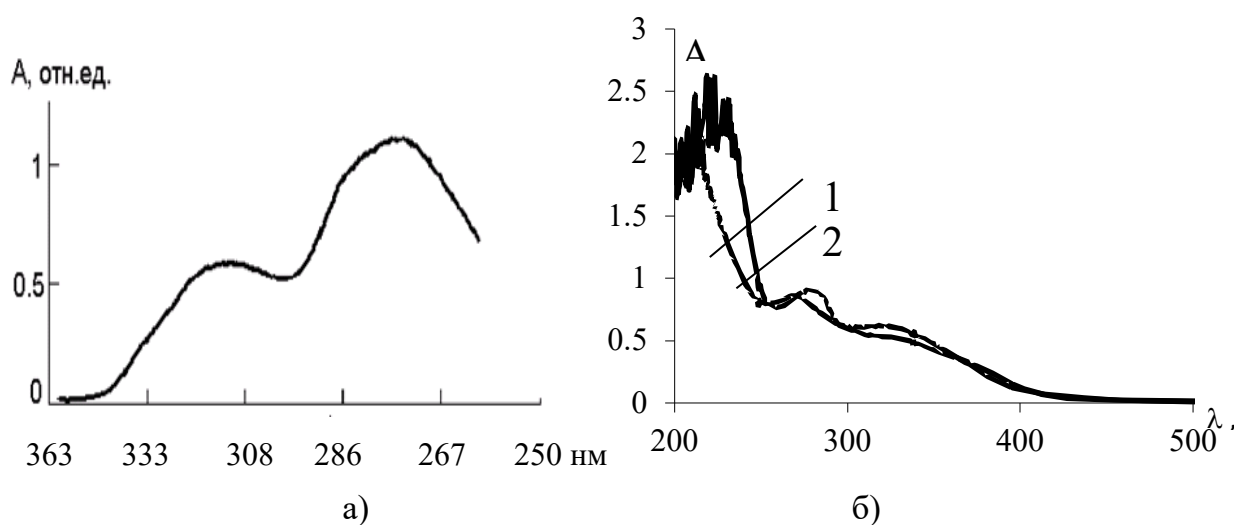


Рисунок 6 – а) Спектр поглощения спиртового раствора кумарина

б) Спектры экстрактов багульника болотного и донника лекарственного в 40 % спирте:
1 – донник (10 мг/мл), 2 – багульник (4 мг/мл)

На рисунке 6 показано, что концентрация экстрагируемых биологически активных веществ в этанольном растворе неодинакова. Из чего мы делаем вывод, что активные вещества в багульнике экстрагируются полнее и наибольшая реакционная способность наблюдается для экстрактов из багульника болотного и эскулетина. Ингибирование радикала ДФПГ равно 40 % для растворов донника при внесении в систему в объеме 500 мкл, кумарин не участвует в ингибировании радикала ДФПГ. Рассмотрено взаимодействие водно-спиртовых растворов донника лекарственного, багульника болотного и муррайи метельчатой со стабильным радикалом ДФПГ.

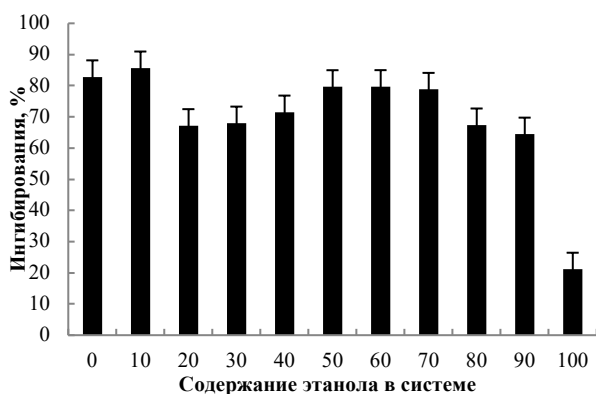


Рисунок 7 – Эффект ингибирования ДФПГ водно-спиртовыми экстрактами донника лекарственного

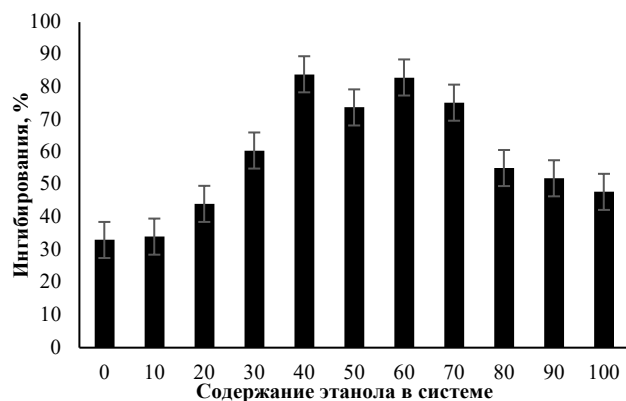


Рисунок 8 – Эффект ингибирования ДФПГ водно-спиртовыми экстрактами багульника

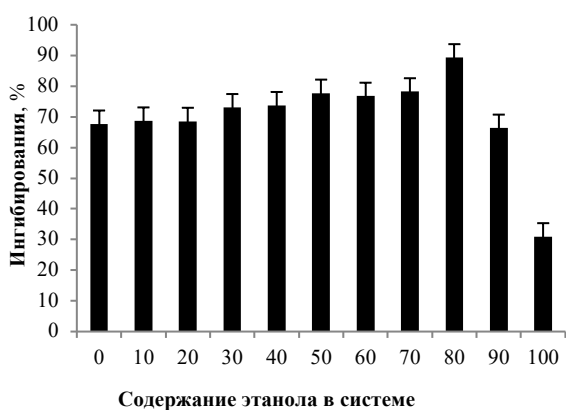


Рисунок 9 – Эффект ингибирования ДФПГ водно-спиртовыми экстрактами муррайи

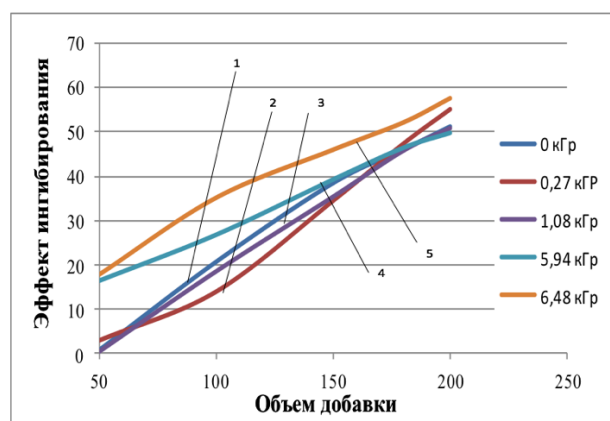


Рисунок 10– Эффект ингибирования ДФПГ 70%-ным этанольным экстрактом муррайи после действия ионизирующего излучения

Установлено, что экстракты багульника болотного (рисунок 7) демонстрируют в 30 раз большую реакционную активность по сравнению с другими экстрактами – донника (рисунок 6) и муррайи (рисунок 9). На рисунке 10 представлены зависимости эффекта ингибирования радикала ДФПГ 70% экстрактами муррайи метельчатой, которые были облучены различными дозами.

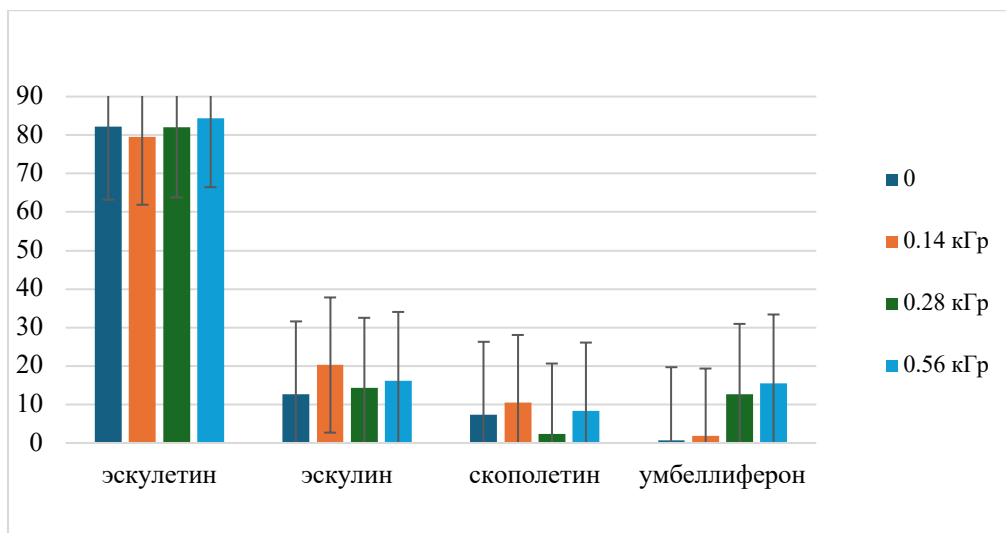


Рисунок 11 – Эффект ингибирования ДФПГ 0.01 М кумарин-производных соединений в 40% этаноле в зависимости от дозы облучения

Установлено (рисунок 11), что индивидуальные кумарины – эскулетин, эскулин, скополетин, умбеллиферон, которые входят в состав экстрактов, после облучения не изменяют реакционной способности в реакции с ДФПГ, для умбеллиферона с увеличением дозы облучения зарегистрировано увеличение реакционной способности в реакции с ДФПГ.

В четвертой главе изложены результаты экспериментов по использованию дрожжевых клеток *S. cerevisiae* T-985 и *S. carlsbergensis* в качестве модельных биологических объектов для оценки эффективности антиоксидантных свойств изучаемых химических добавок и экстрактов растений.

Оценка выживаемости модельных дрожжевых клеток *Saccharomyces* при воздействии АФК. Объектами исследования были выбраны дрожжевые клетки *S. cerevisiae* T-985 и *S. carlsbergensis*, которые в основном применяются в пищевой промышленности.

В результате последовательных циклов обработки пероксидом водорода, пересевов на чистую среду и культивирования были получены дрожжевые культуры, устойчивые к высоким концентрациям пероксида (адаптированные к концентрации 0,6 г/л – **Cere1** и адаптированные к концентрации 6 г/л – **Cere2**). Они представляют собой ценный материал для изучения воздействия высоких концентраций пероксида на дрожжи, поскольку сохраняют жизнеспособность, способность к размножению и физиологическую активность при уровнях, губельных для природных линий (выше 0,6

г/л). Поэтому концентрацию 0,6 г/л можно считать предельной для неподготовленных клеток.

В ходе работы были получены данные по соотношению живых и мертвых клеток в клеточной суспензии в двух условиях: без обработки и после воздействия пероксидом водорода. Анализ проводили сразу после отбора проб, а также после их предварительной 30-минутной выдержки с пероксидом водорода в концентрациях 0,6 г/л и 6 г/л. Оценка проводилась непосредственно после отбора клеток из колбы, её результаты представлены в виде диаграмм на рисунке 12.

На рисунке 12 видно, что наименьшие показатели выживаемости после внесения стрессового агента относятся к **контролю**, затем, по степени увеличения, идут образцы **Cere2** и, наибольший уровень выживания относится к суспензиям **Cere1**. После внесения 0,6 г/л происходит резкое падение показателей: у **контроля** становится 48% (т. е. погибло около 52% клеток, что ожидаемо от неподготовленной культуры), у адаптированных линий **Cere1** и **Cere2** переход не такой резкий – 73% и 59%, соответственно.

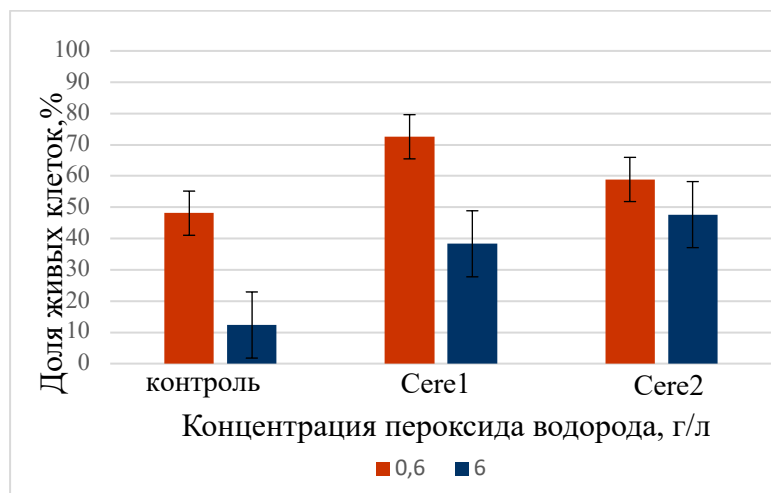


Рисунок 12 – Сравнение выживаемости клеток дрожжей, адаптированных и неадаптированных к стрессу, где образцы дрожжей, адаптированные к концентрации 0,6 г/л – **Cere1**, образцы дрожжей, адаптированные к концентрации 6 г/л – **Cere2**, образцы дрожжей, не подвергшиеся действию пероксида водорода – **контроль**

В результате добавления в колбы 6 г/л пероксида водорода доля живых клеток у **контроля** составляет 12%, у **Cere1** – 38%, а у **Cere2** – 48%. Наиболее высокие показатели адаптации и устойчивости к 0, 6 г/л у **Cere1**, а **Cere2** демонстрирует наиболее высокие показатели адаптации и устойчивости к пероксиду водорода, к 6 г/л, что и ожидалось от адаптированной к высоким концентрация линии. Однако абсолютные значения выживаемости все равно остаются выше у **Cere1**.

Изучение влияния ионизирующего облучения на выживаемость клеток *S. cerevisiae* Meyen T-985. В ходе экспериментов было проведено изучение влияния ионизирующего облучения на адаптированные и неадаптированные линии дрожжей. С целью детального изучения для каждой дозы облучения от каждой линии было отобрано по три пробы. Результаты, описывающие выживаемость клеток при облучении в 400 Гр, 800 Гр, 2000 Гр, представлены на рисунках 13–14.

Показано, что дозы облучения в 2000 Гр лучше переносят адаптированные варианты: разница между **Cere1** и **контроль** составляет 29%, из этого можно сделать вывод, о том, что адаптированный вариант переносит воздействие облучения гораздо лучше, чем тот, который предварительно не подвергали действию пероксида водорода.

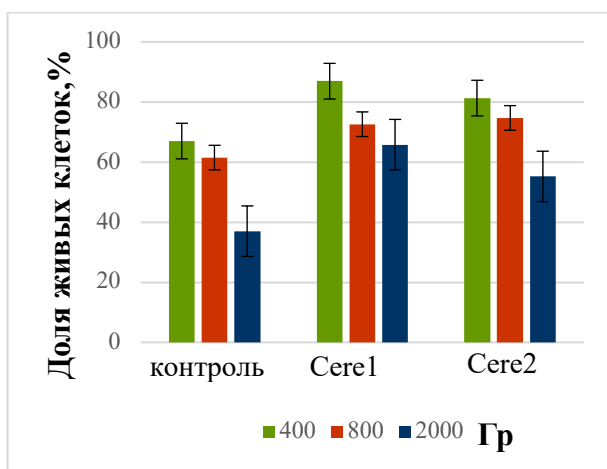


Рисунок 13 – Результаты сравнения выживаемости клеток дрожжей *S. cerevisiae* Meyen T-985, адаптированных к стрессу и неадаптированных спустя 3 часа после влияния ионизирующего облучения в дозах 400 Гр, 800 Гр и 2000 Гр

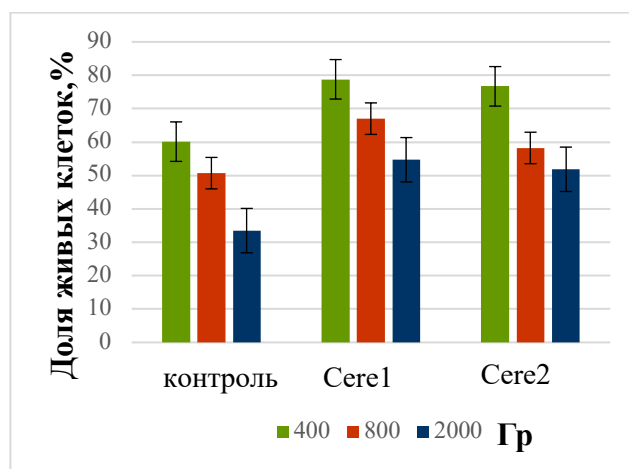


Рисунок 14 – Результаты сравнения выживаемости клеток дрожжей *S. cerevisiae* Meyen T-985, адаптированных к стрессу и неадаптированных спустя 24 часа после влияния ионизирующего облучения в дозах 400 Гр, 800 Гр и 2000 Гр

Кроме того, общее снижение выживаемости при дозе 800 Гр и 2000 Гр у линии **Cere1** носит более плавный характер, отличие между дозами – чуть больше 7 %, как через 3 часа, так и спустя 24 часа, нежели, чем у **контроля** и **Cere2**. У **контроля** при увеличении дозы с 800 Гр до 2000 Гр наблюдается резкое падение выживаемости, равное 24 % (спустя 3 часа) и 17 % (спустя 24 часа).

Дополнительно отмечается общее уменьшение выживаемости у клеток спустя 24 часа после облучения, это может быть связано с условиями хранения проб без освещения, следовательно, отсутствовала фотореактивация, и это негативно сказалось на жизнеспособности.

Влияние дневного света и различных добавок на выживаемость дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces carlsbergensis*. В ходе экспериментов изучена способность выживаемости дрожжей в зависимости от влияния различных факторов (свет, поглощенная доза, различные добавки – АФК, этанол, нафталин, ионол, рутин, экстракты лекарственных растений – багульник болотный, донник лекарственный, каркаде, лабазник вязолистный).

Воздействие ионизирующего излучения оказалось подобно воздействию АФК (пероксида водорода), в то время как освещение играет ключевую роль в адаптации. На рисунке 15 видно, что доля мёртвых клеток при воздействии пероксида водорода или рентгеновского излучения в темноте составляет около 90% и 85% для 1-го пассажа, соответственно. Без освещения этот показатель остаётся высоким к 10-му пассажиру на уровне $70 \pm 5\%$. При освещении доля мёртвых клеток снижается до значений контрольного образца к 6-му пассажиру. На численность клеток и скорость их адаптации при хранении в темноте после воздействия облучения 10,8 кГр существенно не повлияло. На основании этого, можно предположить, что свет действует как антистрессор, помогая клеткам преодолеть окислительный стресс с помощью процесса фоторепарации. Кроме того, показано, что воздействие излучения в дозе 2,7 кГр максимально для последующего восстановления жизнеспособности клеток.

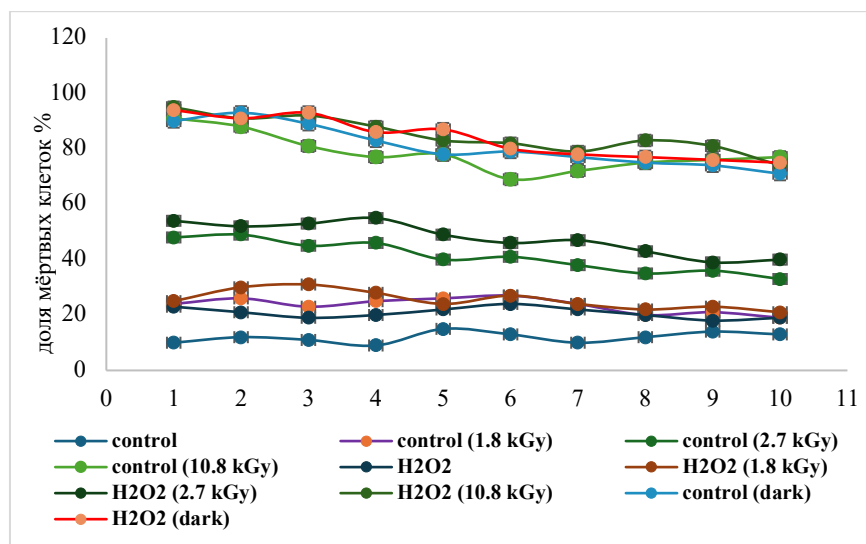
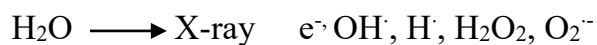


Рисунок 15 – Доля мёртвых клеток в пассажах *S. cerevisiae* Т 985 по мере их адаптации к оптимальным дозам H_2O_2 при различных дозах рентгеновского облучения с последующим культивированием суспензии дрожжей при дневном свете и в темноте

Влияние внесения различных химических факторов на дрожжи *Saccharomyces*.

Известно, что при радиоллизе **нафталина** образуются продукты гидроксирования нафталина, что может инициировать повышение защитных свойств дрожжевых клеток по отношению к окислительному стрессу.



Поэтому для защиты дрожжей *S. cerevisiae* и *S. carlsbergensis* от окислительного стресса в результате облучения нами было предложено выращивание культуры дрожжей в стандартных условиях до конца логарифмической или начала стационарной фазы роста и последующую инкубацию с защитным агентом. Защитным агентом был выбран ингибитор - нафталин в концентрации 0.05 мМ. Время инкубации с защитным агентом составляло 24 часа. Также было показано, что рост дрожжей усиливается при внесении нафталина в среду культивирования.

При облучении дрожжей *S. cerevisiae* и *S. carlsbergensis* до 800 Гр количество живых клеток не изменяется. В присутствии нафталина доля мертвых клеток уменьшается до 9% при 800 Гр. При взаимодействии нафталина (C_{10}H_8) и пероксида водорода (H_2O_2) может происходить процесс окисления, который приводит к образованию оксипроизводных нафталина, таких как нафтолы. На рисунке 16 показана зависимость доли мёртвых клеток неадаптированных к H_2O_2 дрожжей от дозы рентгеновского облучения. При дозах до 400 Гр доли мёртвых клеток у обоих штаммов сходны, но при больших дозах *S. carlsbergensis* проявляют большую чувствительность к облучению, чем *S. cerevisiae*. Добавление H_2O_2 резко снижает устойчивость дрожжей к стрессу, увеличивая долю мёртвых клеток.

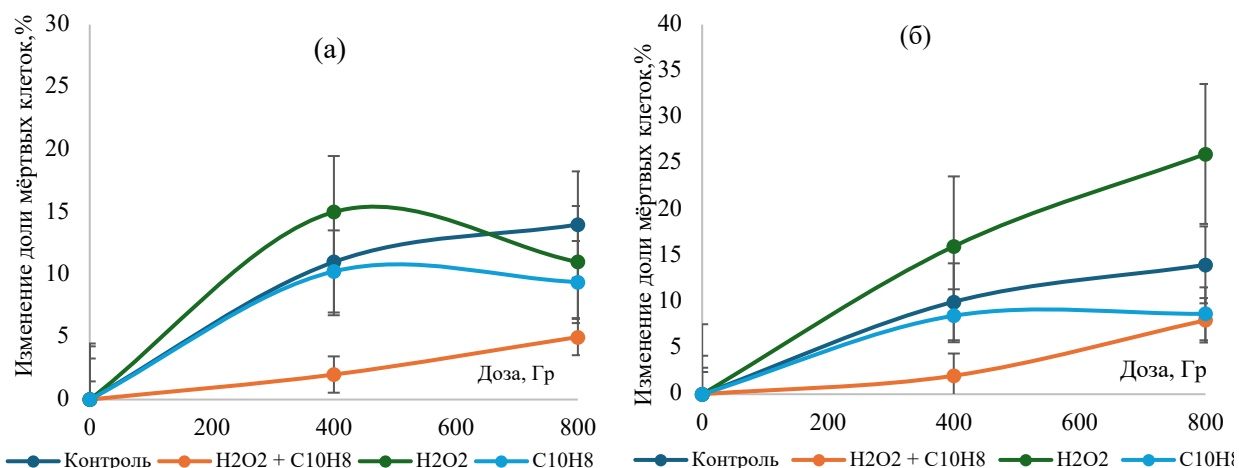


Рисунок 16 – Изменение доли мёртвых клеток дрожжей *S. cerevisiae* (а) и *S. carlsbergensis* (б) в зависимости от поглощенной дозы облучения для следующих систем: 1 – контроль, 2 – H₂O₂ +нафталин, 3 – H₂O₂, 4 – нафталин

На рисунке 17 показано, что добавление **ионола** (5 мМ и 0.5 мМ) снижает долю мёртвых клеток *S. cerevisiae* и *S. carlsbergensis* после облучения дозами 400 и 800 Гр. Через 24 часа доля мёртвых клеток у *S. cerevisiae* в 3–4 раза меньше, чем в контроле. Ионол благоприятно воздействует на выживаемость и репарационные процессы в дрожжевых клетках. А добавление пероксида водорода существенно уменьшает выживаемость клеток сразу после облучения, но способствует протеканию репарационных процессов.

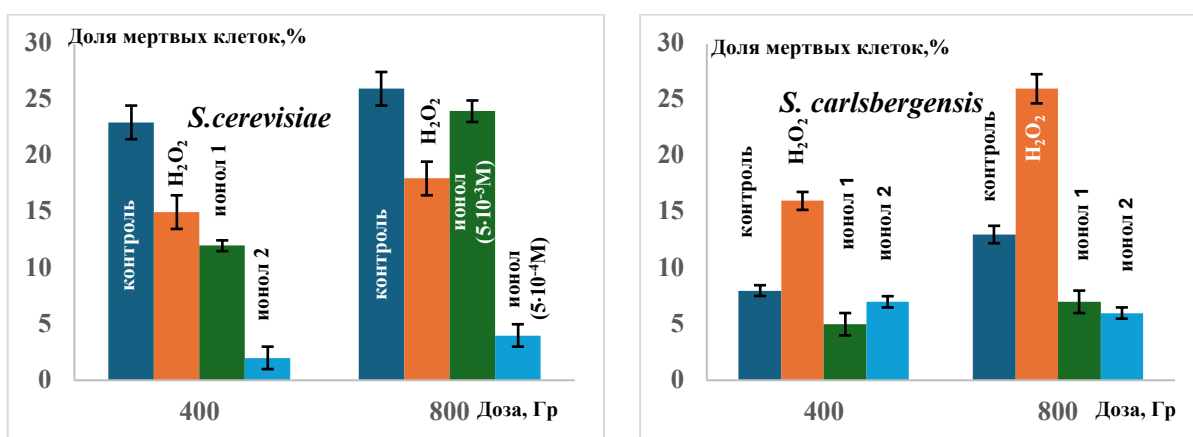


Рисунок 17– Изменение доли мёртвых дрожжевых клеток в зависимости от дозы облучения и последующего внесения ионола в суспензии дрожжей, где **контроль** – без внесенных добавок, **ионол 1** – ионол с концентрацией 5·10⁻³ М и **ионол 2** с концентрацией 5·10⁻⁴ М

В таблице 3 представлены результаты сравнения доли мёртвых клеток *S. cerevisiae* через 3 часа и 24 часа после облучения для этанольных растворов **рутина**. Установлено, что в системах с добавлением 70% раствора рутина доля мёртвых

дрожжевых клеток наименьшая, что позволяет сделать вывод о более выраженных репарационных процессах, протекающих в системах с 70% раствором этанола.

Таблица 3 – Сравнение результатов процента мёртвых клеток *S. Cerevisiae* 0,05мМ рутина в 40% и в 70% растворах этанола

Доза, Гр	Доля мёртвых клеток <i>S. cerevisiae</i> Через 3 часа после облучения, %		Доля мёртвых клеток <i>S. cerevisiae</i> Через 24 часа после облучения, %	
0	Рутин(40%) 12%	< Рутин (70%) 14%	Рутин (40%) 20%	> Рутин (70%) 10%
400	Рутин (40%) 22%	> Рутин (70%) 8%	Рутин (40%) 17%	> Рутин (70%) 15%
800	Рутин (40%) 20%	> Рутин (70%) 12%	Рутин (40%) 19%	> Рутин (70%) 16%
2000	Рутин (40%) 22%	> Рутин (70%) 20%	Рутин (40%) 19%	> Рутин (70%) 12%

В таблице 4 представлены результаты сравнения доли мёртвых клеток *S. cerevisiae* через 3 часа и 24 часа после облучения для 0,05мМ рутина и 0,05мМ ионола в 70% растворе этанола. На основании результатов из таблицы 4, можно сделать вывод о более выраженных антирадикальных свойствах рутина за счёт меньшей доли мёртвых клеток в большинстве изученных систем.

Таблица 4 – Сравнение результатов 0,05мМ рутина и 0,05мМ ионола в 70% растворах этанола

Доза,Гр	Доля мёртвых клеток <i>S. cerevisiae</i> Через 3 часа после облучения, %		Доля мёртвых клеток <i>S. cerevisiae</i> Через 24 часа после облучения, х%	
0	Ионол 16%	< Рутин 14%	Ионол 19%	> Рутин 10%
400	Ионол 18%	> Рутин 8%	Ионол 17%	> Рутин 15%
800	Ионол 17%	> Рутин 12%	Ионол 23%	> Рутин 16%
2000	Ионол 22%	> Рутин 20%	Ионол 24%	> Рутин 12%

Изменения конечного уровня накопления биомассы *S. cerevisiae* и *S. carlsbergensis* в аэробных условиях по мере увеличения числа пассажей при внесении водного экстракта лабазника, донника лекарственного и багульника болотного показаны на рисунках 18 и 19.

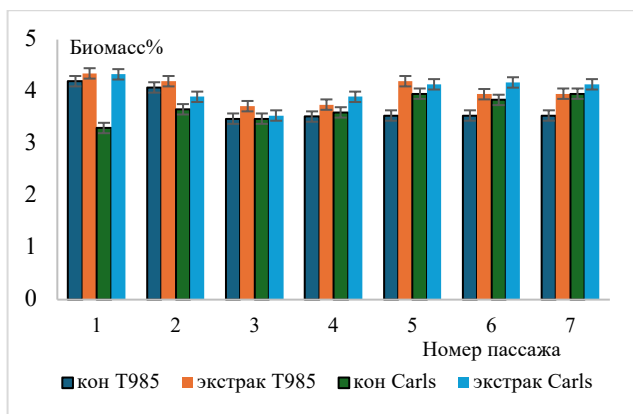


Рисунок 18– Конечный уровень накопления биомассы *S. carlsbergensis* и *S. cerevisiae* в аэробных условиях по мере увеличения числа пассажей при введении водного экстракта лабазника: 1 – контроль *S. cerevisiae*, 2– контроль *S. carlsbergensis*, 3 – введение экстракта лабазника к *S. cerevisiae*, 4 – введение экстракта лабазника к *S. carlsbergensis*

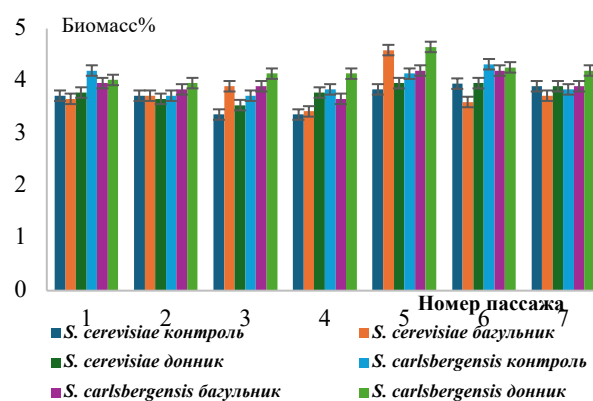


Рисунок 19 – Конечный уровень накопления биомассы *S. carlsbergensis* и *S. cerevisiae* в аэробных условиях при увеличении числа пассажей при введении водного экстракта донника лекарственного и багульника болотного

Таким образом, можно сделать выводы о том, что ионизирующее облучение при высоких дозах в 400 Гр, 800 Гр и 2000 Гр носит негативный характер и подавляет рост клеток. По-видимому, это объясняется стрессовым воздействием на клетки самих метаболитов, продуктов их окисления, а также компонентов среды. Причем после облучения эти агенты могут проявлять повышенную активность в образовании свободных радикалов.

В пятой главе изложены результаты экспериментов по получению и использованию наночастиц селена и серебра для повышения антиоксидантных (радиопротекторных) свойств изучаемых экстрактов, а также по взаимодействию наночастиц с модельными биообъектами.

Изменение уровня накопления биомассы *S. cerevisiae* с добавлением и без добавления нитрата серебра и наночастиц селена в зависимости от дозы облучения.

Добавление экстрактов багульника болотного и донника лекарственного повышает накопление биомассы дрожжей *S. cerevisiae* по сравнению с контролем. Это наблюдается как без облучения, так и при его воздействии, что, вероятно, связано с антиоксидантной активностью экстрактов, стимулирующей рост дрожжей независимо от доз рентгеновского облучения. Показано, что в присутствии серебра без экстрактов

уровень биомассы уменьшается при дозах облучения 400 и 800 Гр. Добавление экстрактов при наличии серебра также снижает накопление биомассы, но этот эффект выражен меньше, чем в контрольных образцах до и после облучения.

На рисунках 20 и 21 показано, что растительные экстракты багульника и донника без серебра снижают смертность клеток как без облучения, так и при воздействии рентгеновского облучения, причем увеличение дозы облучения существенно повышает долю мёртвых клеток. Добавление серебра увеличивает долю мёртвых клеток *S. cerevisiae* в 2–3 раза независимо от наличия растительных экстрактов и облучения. Результаты подтверждают антиоксидантное и радиопротекторное действие растительных экстрактов, тогда как серебро проявляет токсическое действие на дрожжевые клетки в любых условиях.

Воздействие ионизирующего излучения на водные растворы приводит к образованию H_2O_2 , которую можно оценить методом йодометрии по стандартной методике. На рисунке 22 представлены зависимости накопления пероксида водорода в водных растворах с разным содержанием экстракта багульника болотного (э.б.б.)/НЧ-Se.

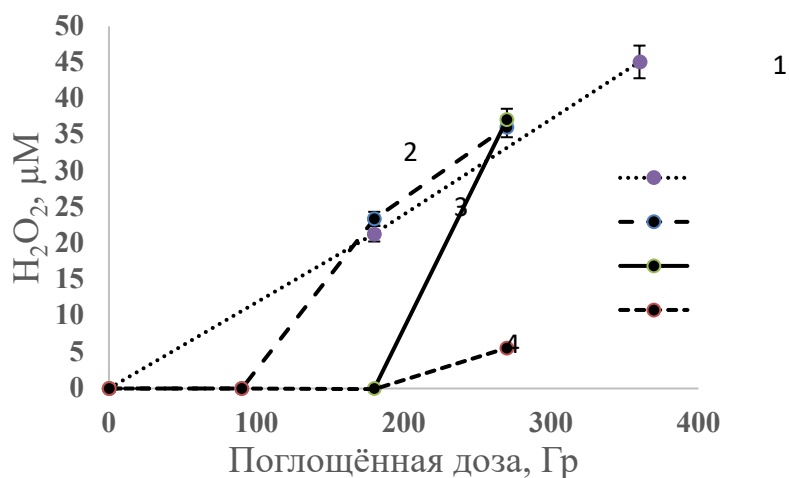


Рисунок 22 - Концентрация пероксида водорода в системе [э.б.б /H₂O/НЧ-Se] в зависимости от поглощенной дозы для следующих образцов:

1 – H₂O (образец №1- контроль), 2 – 0,5 мл [э.б.б/H₂O/НЧ-Se] (образец №2), 3 – 1 мл [э.б.б /H₂O/НЧ-Se] (образец №3), 4 – 1,5 мл [э.б.б/H₂O/НЧ-Se] (образец №4)

Показано, что [э.б.б /H₂O/НЧ-Se] значительно подавляет образование пероксида водорода (таблица 5). Наночастицы селена и биологически активные вещества эффективно взаимодействуют со свободными радикалами и пероксидными соединениями, предотвращая их накопление. Увеличение содержания раствора экстракта багульника болотного с наночастицами селена приводит к повышению антирадикальных свойств и более эффективному подавлению пероксида водорода. Это

свидетельствует о том, что наночастицы селена играют ключевую роль в усилении антиоксидантной активности. Облучение раствора объемом 1,5 мл до дозы 180 Гр в присутствии наночастиц селена показало, что пероксид водорода не образуется. Этот результат демонстрирует способность наночастиц селена эффективно предотвращать образование активных форм кислорода.

Таблица 5 – Определение пероксида водорода

№ образца	Зона ингибирования пероксида водорода (индукционный период), Гр	$G_{H_2O_2}, \frac{\text{молекул}}{100 \text{ эВ}}$
1	0	0,93±0.003
2	>60	1,90±0.002 (60-180 Гр)
3	>180	3,90±0.003 (180-270 Гр)
4	>180	0,60±0.004 (180-270 Гр)

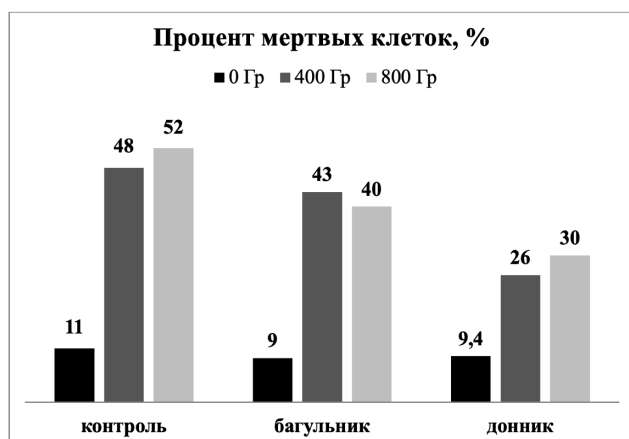


Рисунок –23 Доля мёртвых клеток дрожжей в зависимости от дозы облучения

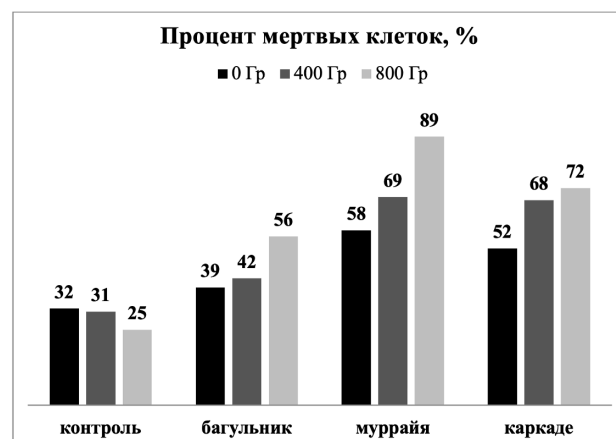


Рисунок – 24 Доля мёртвых клеток дрожжей с добавлением серебра в зависимости от дозы облучения

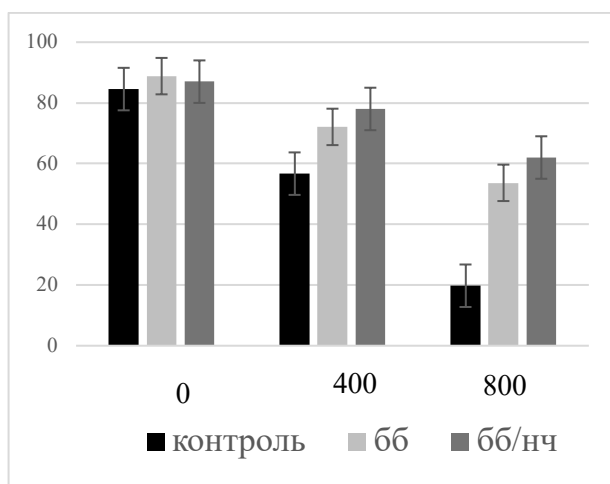


Рисунок – 25 Доля выживших дрожжевых клеток *S. cerevisiae* в присутствии э.б.б./НЧ-Se через 3 часа и 24 часа после облучения

Анализ выживаемости дрожжевых клеток в присутствии экстракта багульника болотного с наночастицами селена (э.б.б /НЧ-Se) (рисунок 25) показал, что без облучения все образцы демонстрируют высокий уровень жизнеспособности (~80-90%), аналогичный нормальным условиям культивирования. При дозе 400 Гр (на рисунке 25) в контрольной группе наблюдается снижение выживаемости до 55–60%, тогда как добавление экстракта багульника болотного (э.б.б) повышает этот показатель до 75-80%, а состав экстракта с наночастицами селена обеспечивает максимальную защиту, увеличивая выживаемость до 85–90%. При 800 Гр контрольная группа демонстрирует значительное снижение выживаемости (~10-15%), в то время как э.б.б. повышает этот показатель до 50-55%, а э.б.б./НЧ-Se — до 60–65%, что свидетельствует о выраженном радиопротекторном эффекте комбинации экстракта с наночастицами селена.

Через 24 часа после облучения в контрольной группе без облучения наблюдается снижение жизнеспособности до 72%, что может быть связано с естественной гибелью клеток, тогда как э.б.б. и э.б.б./НЧ-Se сохраняют немного более высокий уровень выживаемости (~78-85%). При дозе 400 Гр контрольная группа демонстрирует дальнейшее снижение выживаемости до 50%, тогда как экстракт э.б.б. способствует увеличению этого показателя до 68–72%, а добавление состава, содержащего наночастицы селена повышает его до 72–75%, что свидетельствует о восстановительных процессах под действием антиоксидантов. При 800 Гр в контрольной группе выживаемость снижается до ~10%, тогда как в группе э.б.б. она возрастает до 35–40%, а при использовании э.б.б./НЧ-Se достигает 65–70%, что может свидетельствовать о репаративном эффекте, связанном с антиоксидантными свойствами наночастиц селена и экстракта багульника.

Таблица 6 – Влияние различных добавок на долю мёртвых дрожжевых клеток *S. cerevisiae*, %

D, Гр	Оценка доли мертвых дрожжевых клеток <i>S.cerevisiae</i> в присутствии различных добавок, % (данные микроскопии) через 3 часа после облучения										
	Нафталин	H ₂ O ₂ , 0,6 г/л	EtO H	H ₂ O ₂ + нафталин	Рутин в 70% EtOH	Рутин в 40% EtOH	Ионол в 70% EtOH	Лабазник	Донник	Багульник	э.б.б./ НЧ-Se
0	14	20	30	20	14	12	16	6	9	9	10
400	25	36	32	22	8	22	18	10	26	43	15
800	28	46	54	24	12	20	17	14	30	40	18

В таблице 6 представлено сравнение доли мёртвых клеток дрожжей *S. cerevisiae* при использовании различных соединений как меры оценки их антиоксидантного и радиопротекторного действия. Экспериментально показано, что:

- без облучения минимальная доля мёртвых клеток наблюдается при использовании лабазника (6%), а максимальная — с этанолом (30%). Внесение антиоксидантов (рутин в 70% растворе этанола и 40% растворе этаноле, ионол) и экстрактов растений уменьшают долю мёртвых клеток по сравнению с контрольными условиями (H_2O_2 и $C_{10}H_8$) на 20%.

- при дозе 400 Гр доля мёртвых клеток увеличивается для всех составов, однако минимальные значения сохраняются для рутина (8% в 70% растворе этанола). Экстракт лабазника (10%) демонстрирует лучшую радиозащиту среди экстрактов растений. Внесение наночастиц селена практически в 3 раза повышает радиопротекторные свойства экстракта багульника.

- при дозе 800 Гр: увеличение доли мёртвых клеток продолжается. Рутин в 70% этаноле остаётся самым эффективным радиозащитным средством (12%). Лабазник (14%) и ионол (17%) также показывают хорошие защитные свойства. Рутин в 70% этаноле демонстрирует наибольшую радиопротекторную активность, особенно при высоких дозах облучения. Лабазник и ионол также эффективны, но их защитные свойства ниже.

Анализ таблицы 6 показывает, что эффективность антиоксидантной активности изученных экстрактов и их сочетаний (по мере ее убывания) располагается в следующем ряду:

При дозе облучения D=400 Гр:

Рутин (70% этанол) > Лабазник > э.б.б./нч Se > Ионол (70% этанол) > Рутин (40% этанол) > $H_2O_2 + C_{10}H_8$ > $C_{10}H_8$ > донник > Этанол > H_2O_2 > багульник

При дозе облучения D=800 Гр:

Рутин (70% этанол) > Лабазник > Ионол (70% этанол) > Рутин (40% этанол) > $H_2O_2 + C_{10}H_8$ > $C_{10}H_8$ > э.б.б./нч Se > донник > багульник > H_2O_2 > Этанол

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы показана корреляция между химической структурой соединений и их способностью защищать клетки от оксидативного стресса, вызванного радиацией, а также подтверждена возможность использования клеток дрожжей р. *Saccharomyces* в качестве тест-системы для оценки их эффективности, что

открывает новые возможности для синтеза и поиска более эффективных антиоксидантов и радиопротекторов как в России, так и для Республики Союз Мьянма.

На основании проведенных исследований сделаны следующие **выводы**:

1. Доказана перспективность использования дрожжей р. *Saccharomyces* в качестве тест-системы для выявления и оценки потенциальных антиоксидантов и радиопротекторов среди растительных экстрактов и индивидуальных соединений.

2. Радиопротекторная активность кумаринов донника лекарственного подтверждена снижением выхода ионов калия из облучённых клеток, тогда как у багульника болотного такая активность отсутствует, что доказывает структурную специфичность радиопротекторных соединений и обосновывает выбор донника как перспективного источника для разработки радиозащитных препаратов.

3. Свежеприготовленные экстракты багульника болотного, донника лекарственного, муррайи метельчатой и каркаде проявляют выраженные антиоксидантные и радиопротекторные свойства, обеспечивая защиту от окислительного стресса, индуцированного ионизирующим излучением, тест- систем дрожжей *S. cerevisiae* и *S. carlsbergensis*. Присутствие наночастиц серебра, полученных методом «зеленого» синтеза, вызывает токсическое действие на дрожжевые клетки как до, так и после воздействия рентгеновского излучения.

4. Установлено, что видимое освещение облучаемого биологического материала существенно снижает повреждающее и стерилизующее действие ионизирующего излучения в экспериментах с дрожжами, что необходимо учитывать, например, при применении ионизирующего излучения для стерилизации различных видов сельскохозяйственной и пищевой продукции.

5. Впервые показано, что адаптация дрожжей *S. cerevisiae* к пероксиду водорода (0,6 и 6 г/л) не только повышает их устойчивость к облучению, но и приводит к значительному увеличению содержания сырого протеина (до +20%) и нуклеиновых кислот в биомассе, что свидетельствует о метаболической перестройке, направленной на усиление синтеза защитных молекул. Это доказывает перспективность использования пероксида водорода как стрессового индуктора в биотехнологии для повышения содержания белков и нуклеиновых кислот в дрожжах.

6. Предложен новый способ повышения радиационной устойчивости дрожжей-сахаромицетов (*Saccharomyces cerevisiae*) к воздействию ионизирующего излучения, на который получено «ноу-хау». Способ заключается в предварительной обработке клеток дрожжей биологически активным веществом рутином (витамином Р) в

определенной концентрации (0,05 мМ в 40 % и 70% растворе этанола) до и после облучения (0 Гр, 400 Гр, 800, 2000 Гр), что позволяет значительно снизить оксидативный стресс, индуцированный радиацией, и повысить выживаемость клеточной популяции.

7. Установлено, что этанол в исследуемых концентрациях не обладает радиозащитным эффектом и снижает устойчивость дрожжевых клеток к ионизирующему излучению, при этом пострадиационная динамика жизнеспособности не зависит от времени наблюдения (3 ч и 24 ч).

8. Показано, что добавление ионола в диапазоне концентраций $5 \cdot 10^{-3}$ М – $5 \cdot 10^{-4}$ М обеспечивает сильную радиопротекторную активность и повышает выживаемость дрожжей в 2–3 раза как при воздействии ионизирующего излучения, так и при добавлении пероксида водорода.

9. Установлено, что рутин стабилизирует антирадикальную активность после облучения (ингибирование ДФПГ — 67–86%), а доля мертвых клеток дрожжей составляет 8-12% в зависимости от дозы облучения. Оптимальная защита достигается при концентрации рутина 0,05 мМ в 70% растворе этанола, доказывая важность используемого растворителя и дозозависимый эффект.

10. Нафталин также проявляет радиозащитное действие в отношении дрожжей *S. cerevisiae* и *S. carlsbergensis*, которое особенно выражено для *S. cerevisiae*. Защитное действие нафталина, возможно, обусловлено его антиоксидантным действием в условиях окислительного стресса, развивающегося в результате перекрестных реакций в ответе клеток дрожжей на действие рентгеновского излучения.

11. Впервые установлено, что совместное действие экстракта багульника с наночастицами селена приводит к росту антиоксидантных свойств, увеличивая количество живых клеток дрожжей после облучения, что указывает на возможность использования данного экстракта, как радиопротекторного препарата.

В результате проведенной работы разработана методика тестирования растительных экстрактов и соединений кумаринового ряда на предмет выявления антиоксидантной активности с использованием клеток дрожжей р. *Saccharomyses* в качестве тест-системы, а также показана корреляция между химической структурой соединений и их способностью защищать клетки от оксидативного стресса, вызванного радиацией, что открывает возможности для синтеза и поиска более эффективных антиоксидантов и радиопротекторов для Республики Союза Мьянма.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ

Публикации в изданиях, индексируемых в международных базах данных:

1. Antropova I.G. Synthesis of Silver Nanoparticles Using Reactive Water–Ethanol Extracts from *Murraya paniculate* / I. G. Antropova, A. A. Revina, **Phyo Myint Oo**, [et al.] // ACS Omega. – 2021. – Vol, No. 12. – P. 8313-8321. – DOI: 10.1021/acsomega.1c00019. (**Scopus**)
2. Antropova I.G. Coumarin reactivity in free radical reactions / I. G. Antropova, E. S. Kurakina, E. P. Magomedbekov, **Phyo Myint Oo** // Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. – 2019. – Vol. 321, No. 3 – P. 823-829. – DOI 10.1007/s10967-019-06666-8. (**Scopus**).
3. **Phyo Myint Oo**. The influence of medicine plant extracts on viability of yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces carlsbergensis* under the action of ionizing radiation / Phyo Myint Oo, V. I. Panfilov, A. E. Kuznetsov, I. G. Antropova, S. V. Kalenov // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – IOP Publishing, 2022. – V. 1061. – №. 1. – P. 012051. – DOI 10.1088/1755-1315/1061/1/012051 (**Scopus**).
4. **Phyo Myint Oo**. Influence of the reactive oxygen species and ionizing radiation on yeast cells *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces carlsbergensis* under illumination by visible light / **Phyo Myint Oo**, V. I. Panfilov, A. E. Kuznetsov [et al.] // Journal of Agriculture and Environment. – 2023. – No 1(29). – P.1-8. – DOI: <https://doi.org/10.23649/jae.2023.1.39.006>. (**Chemical Abstracts**)
5. **Phyo Myint Oo**. The effect of reactive oxygen species and antioxidants on the survival of yeast cells *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces carlsbergensis* under the action of ionizing radiation / **Phyo Myint Oo**, V. I. Panfilov, A. E. Kuznetsov, I. G. Antropova and S. V. Kalenov // Advances in Ecology and Environmental Engineering: Proceedings of the 2nd International Conference on Ecology and Environmental Engineering (RusEcoCon-2024). – Cham: Springer Nature Switzerland, 2024. – P. 459-468. – DOI:10.1007/978-3-031-64423-8_40 (**Scopus**)
6. **Пхйьо Мьинт У**. Влияние антиоксидантов на выживаемости дрожжевых клеток при действия Рентгеновского облучения / **Пхйьо Мьинт У**, В. И. Панфилов, С. В. Калёнов [и др.] // Chemical Bulletin. – 2024. –Т.7, № 4. – С.104-117. – DOI: 10.58224/2619-0575-2024-7-4-104-117. (**Chemical Abstracts**)
7. **Phyo Myint Oo**. Estimation of radiation sensitivity of *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells strain T- 985 after exposure to stress factor of X-ray in the presence and absence of silver cations / Phyo Myint Oo, V. I. Panfilov, I. G. Antropova, S. V. Kalenov. // RUSECOCON-2025. IOP – PP. 487–495. — DOI: 10.1007/978-3-031-99762-4_42 (**Scopus**)

Публикации в рецензируемых изданиях:

1. **Пхйьо Мьинт У.** Исследование антирадикальной активности кумарина и экстракта донника лекарственного / В. В. Николаева, И. Г. Антропова, **Пхйьо Мьинт У** [и др.] // Бутлеровские сообщения. – Т.38, №4 – С 10-15. (ВАК)
2. Куракина Е.С. Исследование водно-этанольных деаэрированных экстрактов кумаринсодержащих лекарственных растений / Е.С. Куракина, **Пхйьо Мьинт У**, И.Г. Антропова // Бутлеровские сообщения. – 2016. – Т. 45, №3. – С. 105-108. (ВАК)
3. **Пхйьо Мьинт У.** Оценка выживаемости дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces carlsbergensis* в условиях освещения дрожжевых клеток видимым светом в присутствии пероксида водорода и нафталина в пост-радиационный период / **Пхйьо Мьинт У**, В. И. Панфилов, А. Е. Кузнецов [и др.] // Бутлеровские сообщения. – 2023. – Т.73, №1. – С.116-122. – DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/23-73-1-116 (ВАК)
4. **Пхйьо Мьинт У.** «Зеленый» синтез наночастиц серебра с использованием экстрактов лекарственных растений и их влияние на выживаемость дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* T985 / **Пхйьо Мьинт У**, В. И. Панфилов, А. Е. Кузнецов [и др.] // Бутлеровские сообщения. – 2023. – Т. 75, №7. – С.119-124. – DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/23-75-7-119 (ВАК)

Публикации в прочих изданиях:

1. **Мьинт У.** Биотехнологические аспекты исследования роли активных форм кислорода и ионизирующей радиации при воздействии дрожжей клеток *Saccharomyces cerevisiae*. Т-985 / **Пхйьо Мьинт У**, В.И. Панфилов, И.Г. Антропова, А.Е. Кузнецов. // Актуальная биотехнология. – 2020. – С. 592-593.

Публичные доклады на всероссийских и международных научных мероприятиях (конференциях, съездах, симпозиумах, конгрессах):

1. **Пхйьо Мьинт У.** Исследование реакционной способности кумаринсодержащих экстрактов лекарственных растений / **Пхйьо Мьинт У**, И. Г. Антропова, Э. П. Магомедбеков // Кинетика и динамика обменных процессов: Тезисы докладов VII Всероссийского симпозиума и Школы-конференции молодых ученых, посвященных 115-летию со дня открытия хроматографии русским учёным М.С. Цветом, Сочи, 28 октября – 05 ноября 2018 года. – Сочи: Издательский дом «Граница», 2018.– С. 193-194.
2. Антропова И. Г. Радиационно-химическое моделирование антирадикальных реакций, ответственных за биологическую активность муррайи метельчатой / И. Г. Антропова, **Пхйьо Мьинт У** // Успехи в химии и химической технологии. – 2019. – Т. 33, №1 (211). – С. 46-48.

3. **Пхйьо Мьинт У.** Исследование действия ионизирующего излучения на дрожжи *Saccharomyces Cerevisiae* шт. Т-985 / **Пхйьо Мьинт У**, А. Е. Кузнецов, С. В. Калёнов [и др.] // Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность – 2020: Сборник статей по материалам международной научно-практической конференции, Севастополь, 14 – 17 сентября 2020 года / Под редакцией Г.В. Кучерик, Ю.А. Омельчук. – Севастополь: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Севастопольский государственный университет», 2020. – С. 467-470.
4. **Пхйьо Мьинт У.** Исследование радиопротекторных и антиоксидантных свойств препаратов растительного происхождения / **Пхйьо Мьинт У**, И. Г. Антропова, А. Е. Кузнецов // Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность – 2019: Сборник статей по материалам международной научно-практической конференции, Севастополь, 23 – 26 сентября 2019 года / Под редакцией Л.И. Лукиной, Н.В. Ляминой. – Севастополь: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Севастопольский государственный университет», 2019. – С. 1337-1339.
5. **Пхйьо Мьинт У.** Исследование влияния концентрации этанола на численность жизнеспособных клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* шт. Т-985 при действии рентгеновского излучения / **Пхйьо Мьинт У**, В. И. Панфилов, А. Е. Кузнецов [и др.] // Успехи в химии и химической технологии. – 2020. – Т. 34, №11 (234). – С. 73-74.
6. **Пхйьо Мьинт У.** Исследование влияния нафталина на численность жизнеспособных клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* штамм Т-985 и *Carlsbergensis* до и после рентгеновского облучения / **Пхйьо Мьинт У**, А. Е. Кузнецов, С. В. Калёнов [и др.] // Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность – 2021: Сборник статей по материалам международной научно-практической конференции, Севастополь, 20 – 23 сентября 2021 года. – Севастополь: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Севастопольский государственный университет», 2021. – С. 523-525.
7. **Пхйьо Мьинт У.** Исследование жизнеспособности дрожжевых клеток *Saccharomyces Cerevisiae* штамм Т 985 и *Carlsberg* в присутствии водного экстракта лабазника вязолистного до и после воздействия рентгеновских лучей / **Пхйьо Мьинт У**, А. Е. Кузнецов, С. В. Калёнов [и др.] // Перспективы инновационного развития химической технологии и инженерии: II Международная научная конференция, Сумгаит, 18 – 19 ноября 2021 года. Том 7. – SUMQAYIT: Сумгаитский государственный университет, 2021. – С. 213-215.

8. **Пхйьо Мьинт У.** «Зеленый» синтез наночастиц серебра и их влияние на выживаемость дрожжей *saccharomyces cerevisiae* штамм-Т985 / **Пхйьо Мьинт У**, В. И. Панфилов, И. Г. Антропова, С. В. Калёнов, Р. А. Шашин // Проблемы и инновационные решения в химической технологии ПИРХТ-2022: материалы всероссийской конференции с международным участием / Воронеж. гос. ун-т инж. техн. – Воронеж: ВГУИТ, 2022. – 532 с. – ISSN 2079-3502. – С. 59-60.
9. **Phyo Myint Oo.** Synthesis of colloidal solutions of silver nanoparticles by *Murraya paniculata* extracts and their antimicrobial activity / I. G. Antropova, Phyo Myint Oo, E. S. Kurakina, A. S. Smolyanskii, E. P. Magomedbekov // 5th International Conference on Catalysis and Chemical Engineering, San Francisco – 2021. – P. 2.
10. **Пхйьо Мьинт У.** Выживаемость дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* в присутствии антиоксидантов до и после рентгеновского излучения / **Пхйьо Мьинт У**, В. И. Панфилов, И. Г. Антропова [и др.] // Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность – 2023: Сборник статей по материалам международной научно-практической конференции, Севастополь, 18 – 21 сентября 2023 года. Севастополь: Севастопольский государственный университет, 2023. – С. 642-645.
11. **Пхйьо Мьинт У.** Исследование влияния добавления активных форм кислорода и антиоксидантов на выживаемость дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* штамма Т-985 / **Пхйьо Мьинт У** // Современные достижения молодых учёных в биологии, медицине и ветеринарии: сборник материалов II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Астрахань, 23 – 24 ноября 2023 года. – Астрахань: Астраханский государственный университет имени В.Н. Татищева, 2023. – С. 47-48.
12. Хохловкин А.А. Изучение устойчивости галобактерий к действию ионизирующего излучения / А. А. Хохловкин, **Пхйьо Мьинт У**, А. С. Кекшоева, [и др.] // Успехи в химии и химической технологии. – 2024. – Т. 38, №8 (287). – С. 116-119.
13. Магомедов Г.Ю. Антиоксидантная активность водного экстракта багульника болотного (*ledum palustre*) и его композиции с наночастицами селена, полученными методом «зеленого» синтеза / Г. Ю. Магомедов, И. Г. Антропова, **Пхйьо Мьинт У** // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: Сборник научных трудов XII международной научной конференции молодых ученых, Москва, 05 – 06 декабря 2024 года. – Москва: Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, 2024. – С. 215-219.