

ОТЗЫВ

официального оппонента
на диссертационную работу Зинатуллиной Карины Марсовны «Кинетика и механизм радикальных реакций гидрофильных тиолов», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия

Актуальность темы диссертации. Реакции тиолов с активными формами кислорода (АФК) и тиол-дисульфидного обмена в белках и низкомолекулярных пептидах играют важную роль в функционировании живых организмов и формировании иммунной системы. Несмотря на большое количество публикаций, рассматривающих реакции тиолов с АФК в водных буферных растворах, можно отметить как большой разброс в количественных характеристиках реакционной способности тиолов, так и отсутствие в литературе систематических исследований кинетических закономерностей и обоснованного механизма реакций тиолов с АФК, учитывающего влияние среды на эти реакции. Недавно обнаруженные в органических средах радикально-цепные тиол-ен реакциями тиолов с хиноидными соединениями (ИПХФ РАН) и образованием радикалов в реакции тиола меркаптоэтанола с гидропероксидами (ИФХ РАН), актуализировали интерес к возможности образования радикалов в реакциях природных тиолов с пероксидами и инициированию ими тиол-ен реакций с ненасыщенными соединениями в водных растворах. В связи с этим задачи, поставленные в диссертационной работе Зинатуллиной К. М. и направленные на выявление образования радикалов, их природы в реакции тиолов с H_2O_2 , определения кинетических характеристик и механизма реакций тиолов с пероксильными радикалами, с H_2O_2 , инициируемых тиол-ен реакции тиолов с ненасыщенными соединениями на примере ресвератрола в деионизированной воде, выяснения влияния pH и отдельных катионов, предложения кинетически обоснованного механизма для исследуемых реакции являются актуальными и вытекающими из развития данной предметной области.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа объемом в 140 страниц машинописного текста состоит из введения, пяти глав (обзор литературы, экспериментальная часть, обсуждение результатов), заключения, основных результатов и выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 309 источников.

Во **введении** обоснована актуальность исследования реакций гидрофильных тиолов с АФК, представлена степень разработанности темы, сформулированы цель и основные задачи работы, дана оценка научной новизны, описана теоретическая и практическая

значимость работы, представлены положения, выносимые на защиту, степень достоверности результатов работы и информация об апробации работы.

В литературном обзоре (**глава 1**) рассмотрена феноменология действия антиоксидантов в процессах окисления липидов, обобщены экспериментальные и теоретические данные о физико-химических свойствах природных тиолов, кинетике и механизме их реакций с АФК. Перечисленные выше предметные области проанализированы с привлечением значимого количества литературных источников, что позволяет сформировать целостную картину, позволяющую выделить направления исследований для автора диссертационной работы.

В экспериментальной части (**глава 2**) представлена информация о веществах, материалах и экспериментальных методах (кинетическая спектрофотометрия, электронный парамагнитный резонанс, масс-спектрометрия, изотермическая калориметрия), использованных при проведении исследований, описаны методики проведения экспериментов, описан выбор анионного полиметинового красителя в качестве акцептора радикалов для водных растворов.

В **главе 3** представлена оценка антирадикальной активности тиолов и ресвератрола методом конкурирующих реакций с выбранным полиметиновым красителем в качестве акцептора радикалов. Показано, что при постоянной скорости инициирования радикалов добавки тиолов действуют как конкурирующий акцептор радикалов, что позволило рассчитать константы скорости реакций с пероксильными радикалами, которые характеризуют тиолы и ресвератрол, как ингибиторы умеренной силы.

В **главе 4** экспериментально обоснован многостадийный механизм реакции тиолов с H_2O_2 в деионизированной воде. Наблюдаемое совпадение кинетики тепловыделения в реакциях глутатиона и *N*-ацетилцистеина с H_2O_2 , взятых в стехиометрических соотношениях реакции, указывает на относительную автономность связей S–H и S–S в тиолах и дисульфидах, на которые не оказывают влияния другие группы в молекуле. Методом ингибиторов зарегистрировано образование радикалов в изучаемых системах и установлена реакционная способность тиолов в генерировании радикалов в реакции с H_2O_2 . Для глутатиона и *N*-ацетилцистеина с использованием метода спиновых ловушек показано, что в их реакции с H_2O_2 образуются тиольные радикалы, которые могут инициировать тиол-ен реакции с ненасыщенными соединениями (на примере ресвератрола и кофейной кислоты). На основании экспериментальных и литературных данных о взаимодействии глутатиона и H_2O_2 и тиол-ен реакции глутатиона с ресвератролом предложена их кинетическая модель, описывающая особенности кинетики процесса в широком диапазоне концентраций реагентов в водной среде при физиологической температуре.

В главе 5 представлены данные о влиянии pH и отдельных катионов на исследуемые реакции. Помимо данных о кинетике этих процессов особого внимания заслуживает тот факт, что ионы K^+ специфически взаимодействуют с глутатионом: увеличивают скорость его окисления пероксидом водорода, но при этом уменьшают выход радикалов в этой реакции по сравнению с катионами Na^+ и ацетилхолина (R_4N^+).

В **Заключении** автор излагает свой взгляд на перспективы научного и практического применения результатов диссертационной работы.

Научная новизна и практическая значимость диссертационной работы Зинатуллиной К.М. заключается в том, что:

Детально изучена кинетика и установлен механизм радикальных реакций природных тиолов с пероксильными радикалами и H_2O_2 в деионизированной воде, определены константы скорости реакций и предложена кинетическая модель для сложного механизма взаимодействия глутатиона с H_2O_2 .

Обнаружено, что при $pH < 7$ в деионизированной воде при взаимодействии исследованных тиолов (глутатиона, цистеина, гомоцистеина, *N*-ацетилцистеина) с H_2O_2 происходит образование тиольных радикалов.

Выявлены кинетические закономерности и установлен механизм тиол-ен реакции глутатиона с ненасыщенными соединениями на примере ресвератрола в деионизированной воде в присутствии H_2O_2 ; предложена кинетическая модель радикально-цепной тиол-ен реакции.

Установлено увеличение активности эндогенных тиолов в реакциях с пероксильными радикалами в фосфатных буферных растворах при $pH \geq 7$ и изменение механизма взаимодействия глутатиона с H_2O_2 при $pH \geq 7$; показано, что в диапазоне физиологических pH 6,8–7,4, скорость расходования тиола описывается экспоненциальной зависимостью $\lg W_{TSH} = \text{const} + pH$.

Обнаружено влияние биологически значимых катионов K^+ и ацетилхолина (R_4N^+) на поведение редокс пары глутатион - H_2O_2 .

Полученные в работе результаты по кинетике и механизму радикальных реакций исследованных тиолов в деионизированной воде существенно дополняют знания о механизме реакций природных тиолов с АФК и другими биоантиоксидантами, а предложенные и экспериментально обоснованные кинетические модели их реакций могут быть использованы для прогнозирования и оценки воздействия на живые организмы совместного действия тиолов с биоантиоксидантами и фармпрепаратами в условиях окислительного стресса.

Полученные количественные данные могут быть востребованы в синтетической биологии, поскольку тиолы оказывают влияние на клеточный окислительно-восстановительный метаболизм, антиоксидантную защиту и передачу сигналов в живых объектах.

Достоверность полученных результатов. Достоверность и надежность результатов диссертационного исследования Зинатуллиной К.М. основаны на применении современных физико-химических методов исследования таких, как метод кинетической УФ-спектрофотометрии, методы ЭПР, масс-спектропии, изотермической калориметрии, компьютерное моделирование, а также на согласованности результатов, полученных разными методами.

Замечания по работе. У оппонента нет замечаний, затрагивающих выводы работы и положения, составляющие научную новизну выполненного исследования. Вместе с тем хотелось бы знать точку зрения автора по некоторым вопросам, затронутым в работе:

1. Остается не объясненной причина отсутствия в масс-спектрах продуктов реакции глутатиона с ресвератролом в присутствии перекиси водорода в деионизированной воде иона, соответствующего комплексу глутатиона с перекисью водорода, вводимого в кинетическую модель процесса (реакции I-III, с.78).
2. Требуется дополнительных комментариев рабочая гипотеза автора об образовании катиона ацетилхолина «комплекса-микроагрегата» с молекулой глутатиона, в котором облегчается радикальный распад перекиси водорода, а глутатион дополнительно расходуется в реакциях с образовавшимися при этом радикалами. Для современной квантовой химии рассмотрение взаимодействия катиона ацетилхолина в ассоциате молекул ацетилхолина с глутатионом не выглядит не решаемой задачей.
3. Хотелось бы видеть соображения автора на предмет специфического взаимодействия ионов K^+ с глутатионом, увеличивающего скорость окисления последнего пероксидом водорода.
4. Вряд ли оправдано появление в тексте экспериментальной части диссертации и автореферате упоминаний об «активных формах кислорода», поскольку из всего их многообразия автор рассматривает исключительно гидроксильные радикалы.

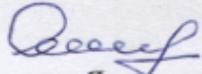
Поставленные вопросы ни в коей мере не влияют на общую высокую оценку выполненного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Зинатуллиной Карины Марсовны «Кинетика и механизм радикальных реакций гидрофильных тиолов» актуальна и логически завершена. Объем и научный уровень выполненной соискателем работы позволяют охарактеризовать автора как квалифицированного специалиста в области физической химии. Основные результаты диссертационного исследования представлены в 10-ти статьях в рецензируемых журналах, 12 статьях в сборниках научных статей, а также 14-ти тезисах докладов и выступлениях на всероссийских и международных конференциях. Выводы диссертации соответствуют основным результатам исследований. Содержание автореферата полно и точно отражает содержание диссертации.

Считаю, что диссертационная работа Зинатуллиной Карины Марсовны, в которой решена важная научная задача установления кинетических закономерностей и механизма радикальных реакций гидрофильных тиолов с активными формами кислорода в водных растворах и влиянию среды на них по своей актуальности, научной новизне, содержанию, степени обоснованности научных положений и выводов, достоверности полученных результатов, научной и практической значимости в полной мере соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 01 октября 2018 г. № 1168, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук и паспорту заявленной специальности 1.4.4. Физическая химия (п.7, 10), а соискатель рецензируемой работы Зинатуллина Карина Марсовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия.

Официальный оппонент
Доктор химических наук (02.0015)
Профессор (02.00.15)
Заведующий кафедрой химической кинетики
Химического факультета МГУ имени М.В.
Ломоносова
16 февраля 2022


Михаил Яковлевич Мельников

Почтовый адрес: 119991, ГСП-1, г. Москва, Ленинские горы, МГУ имени
М. В. Ломоносова, дом 1, строение 3, химический
факультет, кафедра химической кинетики
Телефон: +7(495) 939-18-14
Адрес электронной почты: melnikov46@mail.ru

Место работы:

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Московский государственный университет имени
М. В. Ломоносова» (химический факультет
Московского государственного университета имени
М. В. Ломоносова); кафедра химической кинетики

Подпись д.х.н., профессора Мельникова М.Я. удостоверяю.

Декан химического факультета МГУ имени

М.В.Ломоносова, чл-корр. РАН


С.Н.Калмыков

