

УТВЕРЖДАЮ

Зам. директора Федерального  
государственного бюджетного  
учреждения науки Института проблем  
химической физики Российской  
академии наук (ИПХФ РАН)

Д.х.н.  Бадамшина Э.Р.

«» февраля 2022 г.



## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

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

Рассмотрев и обсудив диссертационную работу Зинатуллиной К. М. «Кинетика и механизм радикальных реакций гидрофильных тиолов», отмечаем следующее:

### **Актуальность темы диссертации**

Диссертационная работа Зинатуллиной К.М. «Кинетика и механизм радикальных реакций гидрофильных тиолов» посвящена изучению реакций биологически значимых серосодержащих аминокислот и трипептида глутатиона (GSH) в водных растворах. В качестве других участников реакций выступали перекисные радикалы и пероксид водорода, т.е. одни из главных представителей активных форм кислорода (АФК), образующихся в процессе аэробного метаболизма клеток. Тема диссертационной работы связана с исследованием окислительного стресса, так как затрагивает вопросы утилизации АФК в живых системах. Сказанное свидетельствует об актуальности темы диссертационной работы.

Диссертационная работа Зинатуллиной К.М. выполнена в области, пограничной между биохимией (медициной) и физической химией (химической кинетикой). Для решения поставленных задач в диссертации сочетаются кинетические подходы к проблеме совместно с привлечением набора физико-химических методов исследования. Диссертационная работа представляет собой исследование в области физической химии, выполненное на объектах, важных для

биохимии и медицины.

### **Научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные в работе данные имеют все признаки научной новизны и представляют значительный научный и практический интерес.

На количественном уровне впервые проведено изучение антирадикальной активности ряда тиолов и ресвератрола методом конкурирующих реакций с использованием анионного полиметинового красителя в качестве конкурентного акцептора радикалов. Определены константы скорости реакций, а также стехиометрические коэффициенты взаимодействия.

Методом ЭПР с использованием спиновой ловушки установлено, что реакция тиолов (глутатиона, цистеина, гомоцистеина, N-ацетилцистеина) с пероксидом водорода в деионизированной воде сопровождается образованием тиольных радикалов, причем при  $\text{pH} > 7$  образование радикалов не происходит.

В водном растворе обнаружена радикально-цепная тиол-ен реакция между глутатионом и ресвератролом – фенолом, содержащим ненасыщенную связь в боковой цепи. Предложена кинетическая модель реакции.

Изучено влияние  $\text{pH}$  на скорости реакций тиолов с пероксильными радикалами и перекисью водорода. Установлено, что конкурентная активность тиолов (TSH) в реакциях с пероксильными радикалами в фосфатных буферных растворах при  $\text{pH} \geq 7$  увеличивается, а в диапазоне  $\text{pH}$  6.8–7.4 имеет место следующая зависимость скорости реакции TSH с  $\text{H}_2\text{O}_2$  от  $\text{pH}$ :  $\lg W_{\text{TSH}} = \text{const} + \text{pH}$ .

Обнаружено противоположное влияние катионов ацетилхолина и калия на скорость реакции глутатиона с пероксидом водорода. Показано, что ацетилхолин более чем в два раза увеличивает, а катионы калия в полтора раза уменьшают скорость образования радикалов в этой реакции.

Кинетическую информацию о константах скорости, полученные данные по кинетике и механизму радикальных реакций тиолов в деионизированной воде, а также рассмотренные в работе кинетические модели реакции глутатиона с пероксидом водорода можно рекомендовать к использованию в качестве исходного кинетического фундамента при изучении других систем.

### **Соответствие тематики диссертационной работы паспорту специальности**

Содержание диссертационной работы Зинатуллиной К.М. «Кинетика и механизм радикальных реакций гидрофильных тиолов» соответствует паспорту специальности 1.4.4 – «физическая химия» (пункты 7, 9, 10).

## Структура и объем работы

Диссертационная работа состоит из введения, 5 глав, включая обзор литературы, а также заключения, основных результатов и выводов, списка сокращений и списка литературы (309 наименований). Общий объем работы составляет 140 страниц, включая 45 рисунков, 19 таблиц и 3 схемы.

**Во Введении** обоснована актуальность работы, сформулированы цели и задачи исследования, описана значимость, представлены положения, выносимые на защиту, а также оценка научной новизны.

В **главе 1** представлен аналитический обзор литературных данных. Даны сведения из теории жидкофазного окисления органических соединений и механизма действия антиоксидантов. Представлены сведения о тиолах, присутствующих в живых организмах, и об их физиологическом действии. Также рассмотрены существующие взгляды на кинетику и механизм реакций биологических тиолов с активными формами кислорода.

В **главе 2** описаны использовавшиеся реагенты, растворитель (вода), компоненты фосфатных буферов. Также описаны применявшиеся в работе методы кинетической спектрофотометрии, методы ЭПР- и масс-спектрометрии, метод изотермической калориметрии. Представлено описание экспериментов по определению константы скорости акцептирования радикалов красителем **A** и оценке стехиометрического коэффициента этой радикальной реакции.

В **главе 3** представлены результаты изучения антирадикальной активности использовавшихся тиолов и природных фенолов по отношению к пероксидным радикалам, приведены численные значения констант скорости реакций, найденные методом конкурирующих реакций с анионным красителем **A**.

**Глава 4** посвящена изучению кинетики и механизма реакций тиолов с перекисью водорода в деионизированной воде. Методом спиновой ловушки доказано образование гидроксильных и (впервые) – тиольных радикалов в этой реакции. Показано, что тиольные радикалы образуются с малым выходом, составляющим доли процента. Описана обнаруженная авторами радикально-цепная тиол-ен реакция между глутатионом и ресвератролом в водном растворе перекиси водорода, инициированная тиольными радикалами, образующимися с малым выходом в реакции глутатиона с  $H_2O_2$ , оценена длина цепи – несколько звеньев. Разработана кинетическая модель реакции.

В **5 главе** описаны результаты изучения влияния pH и биологически важных одновалентных катионов на кинетику реакций глутатиона с перекисными радикалами и  $H_2O_2$ , а также на тиол-ен реакцию глутатиона с ресвератролом в присутствии  $H_2O_2$ . В диапазоне pH 6.8–7.4 установлена линейная зависимость

скорости реакции тиолов TSH с  $H_2O_2$  pH:  $\lg W_{TSH} = \text{const} + \text{pH}$ .

### **Достоверность основных положений и выводов**

Надежность и обоснованность основных положений и выводов диссертации не вызывает сомнений, поскольку они базируются на корректном использовании современных физико-химических методов исследования, критическом анализе полученных данных, тщательности проведения эксперимента и хорошей воспроизводимости результатов. В целом работа может быть охарактеризована как цельное с концептуальной точки зрения исследование.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 10 статей в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК РФ, а также 12 статей в сборниках научных статей и 14 тезисов докладов на конференциях разного уровня.

### **Замечания по работе**

Имеются замечания непринципиального характера, все касаются оформления диссертации.

1. Литературный обзор (и количество ссылок) можно значительно сократить без ущерба качеству диссертации, опустив материал о содержании тиолов в организмах и об их физиологическом действии.

2. Автор не всегда внимателен. Так, в подписи к рис. 4в (стр. 46) записано, что на рисунке показана «зависимость начального наклона полулогарифмических анаморфоз кривых рис. 2б от концентрации А», однако координатными осями на этом рисунке являются «оптическая плотность» и «время», т.е. величины, которые пригодны только для построения кривых расходования А.

3. В диссертации расходование веществ часто представляется не в виде кинетических кривых, т.е. кривых в координатах «концентрация» – «время», а в виде изменения во времени оптической плотности, т.е. величины, пропорциональной концентрации. При представлении данных для опытов с инициатором диссертант обычно указывает не скорости иницирования, а концентрации инициатора. Также концентрации веществ вместо принятого в кинетике степенного представления  $\times 10^{-3}$  моль  $л^{-1}$  и  $\times 10^{-6}$  моль  $л^{-1}$  даны в мМ и  $\mu$ М. Время на рисунках дано не в секундах, а во внесистемных единицах минутах. Указанные непринципиальные замечания в действительности нельзя считать мелочами, потому что они существенно (в разы) снижают скорость прочтения

работы при рецензировании, так как необходимо постоянно копаться в диссертации в поисках коэффициентов экстинкции или констант скорости инициирования при распаде инициатора и т.п. Автор явно не подумал о «сервисе» для читателя.

В целом указанные замечания не снижают общего положительного впечатления о работе. Диссертация и автореферат написаны грамотно, практически не содержат ошибок и опечаток. Соискатель выполнил значительное по объему оригинальное исследование. Полученные результаты детально проанализированы и обобщены. Опубликованные работы и автореферат полностью отражают содержание диссертации.

Результаты работы можно рекомендовать к использованию в Институте проблем химической физики РАН, Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского, Институте органической химии Уфимского научного центра РАН, Институте физиологически активных веществ РАН, на кафедрах вузов, занимающихся проблемами химической кинетики: МГУ им. М.В. Ломоносова, БашГУ (г. Уфа), ЯрГУ (г. Ярославль), Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского, КГТУ (г. Казань).


### **Заключение**

На основании результатов рассмотрения диссертации и автореферата на научном семинаре Отдела кинетики и катализа ИПХФ РАН ведущая организация считает, что диссертационная работа Зинатуллиной К.М. представляет собой законченную научно-квалификационную пионерскую работу, компетентно выполненную автором с использованием методов химической кинетики на биологически важных объектах на высоком экспериментальном и теоретическом уровне.

По актуальности, новизне, практической значимости и уровню проведенных исследований работа отвечает требованиям, изложенным в пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ № 426 от 20.03.2021 г., а ее автор Зинатуллина Карина Марсовна заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4 «Физическая химия».

Настоящий отзыв рассмотрен и утвержден на заседании секции № 2 Ученого совета ИПХФ РАН (отдел Кинетики и катализа) 15 февраля 2022 г. (протокол № 1 от 15 февраля 2022 г.), присутствовало 24 чел.

Зав. лабораторией радикальных жидкофазных реакций ИПХФ РАН,  
д.х.н. (специальность 02.00.15)

 Варламов Владимир Трофимович

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
науки Институт проблем химической физики РАН  
Почтовый адрес: 142432, Московская область, Ногинский р-н,  
г. Черноголовка, просп. академика Н.Н. Семенова, д. 1  
Телефон: +7(495)9935707  
Адрес электронной почты: [office@icp.ac.ru](mailto:office@icp.ac.ru)  
Web-сайт: <https://www.icp.ac.ru>

Личную подпись В.Т. Варламова заверяю:  
Ученый секретарь ИПХФ РАН,  
д.х.н.



 Психа Борис Львович