

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Панова Михаила Сергеевича  
“Косвенное детектирование короткоживущих интермедиатов реакций с участием  
биологически важных молекул методом импульсного ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ ”  
представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по  
специальности 01.04.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика  
экстремальных состояний вещества

Исследование механизмов протекания реакций в биологических системах является важной областью науки вследствие определяющей роли этих процессов в развитии различных заболеваний. Определение структуры и свойств короткоживущих интермедиатов является важнейшим этапом для определения механизмов быстропротекающих химических процессов с участием биологически важных молекул. Такими интермедиатами могут быть радикалы или метастабильные конформации диамагнитных молекул. Наряду с прямыми методами регистрации подобных частиц (оптическое детектирование, электронный парамагнитный резонанс (ЭПР)) большое значение имеют косвенные методики, основанные на ядерном магнитном резонансе (ЯМР). Косвенный метод регистрации свободных радикалов – химическая поляризация ядер (ХПЯ) – основан на аномальной интенсивности линий в спектре ЯМР при протекании свободнорадикальных химических реакций. Работа Панова Михаила Сергеевича является продолжением цикла работ в МГЦ СОРАН по развитию метода ХПЯ, а также применения других косвенных методов детектирования.

Диссертация состоит из введения, 3-х глав, первая из которых посвящена обзору литературы, во второй описаны экспериментальные методики, использованные в работе, а в третьей представлены результаты и их обсуждение; приложения с написанной программой для поиска разности g-факторов по полевой зависимости ХПЯ, списка сокращений и списка литературы из 217 наименований. Работа содержит 71 рисунок и 9 таблицы и имеет общий объем 142 страницы (вместе с приложением).

Во введении обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цели и задачи работы, приведены положения, выносимые на защиту,

охарактеризована новизна подходов и достоверность полученных результатов, перечислены 8 конференций, где работа прошла апробацию, приведены данные о личном вкладе соискателя и дано краткое описание диссертации.

Первая глава представляет собой обзор литературы по следующим разделам: механизм возникновения и экспериментальные проявления ХПЯ; когерентное перераспределение поляризации спинов при прохождении антипересечения энергетических уровней; физико-химические свойства исследованных в работе соединений; краткий обзор по эксцизионной репарации ДНК и исследованию динамики раскрытия двойной спирали различных ДНК дуплексов.

Во второй главе описаны методы, использованные в работе, такие как ХПЯ с временным разрешением, ХПЯ с переключением магнитного поля, квантово-химические расчеты, а также перечислены основные методы математической обработки полученных результатов.

Третья глава – результаты и обсуждение. В этой главе шесть разделов, каждый из которых обладает постановкой задачи и выводами. В первом разделе поднимается вопрос о необходимости учета спиновой динамики в диамагнитных продуктах при анализе слабополевой ХПЯ. Этот факт иллюстрируется анализом полевой зависимости ХПЯ, возникающей в фотореакции *n*-бутиламина и 4-карбокситбензофенона, в которой наблюдаются максимумы в промежуточных полях, не связанные с динамикой в радикальной паре. Это подтверждается экспериментами по переносу поляризации спинов в слабом и промежуточном поле.

Далее обсуждается фотореакции 3,3',4,4'-тетракарбокситбензофенона (ТСВР) и аминокислот гистидина и тирозина. Для фотореакции с гистидином получен спектр ХПЯ  $^{13}\text{C}$  на природном содержании магнитного изотопа, из анализа этого спектра получены относительные константы СТВ и из их сравнения с рассчитанными методом DFT константами была определена структура радикала ТСВР. Косвенным образом определен механизм фотореакции ТСВР с тирозином, по спектру  $^1\text{H}$  ХПЯ было выявлено участие трех радикальных пар в спиновой динамике, приведшей к возникновению ХПЯ, а именно нейтрального радикала тирозина с различными радикалами ТСВР, протонированными по разным карбоксильным группам.



Комплементарное сочетание ХПЯ с временным разрешением и зависимости от магнитного поля позволило установить механизм фотоокислительно-восстановительной реакции между 4-карбоксибензофеноном и двумя серосодержащими частицами, аминокислотой S-метилцистеином и трипептидом S-метилглутатионом. Структурой радикалов в обоих случаях оказалась циклическая, пяти- и десятичленная соответственно, с двух-центральной трех-электронной связью между атомами серы и кислорода.

В пятой части третьей главы изучена динамика четырех ДНК дуплексов, канонического и трех химически модифицированных в седьмом положении. Сделано отнесение сигналов, определены температуры плавления дуплексов, из анализа скорости обмена намагниченности с водой были получены сайт-специфичные данные о константах равновесия процесса открытия-закрытия. Из этих данных был сделан вывод о драматическом влиянии химической модификации азотистого основания в седьмом положении на стабильность всего дуплекса.

В заключение третьей главы автор представляет результаты по первому наблюдению фото-ХПЯ 1H при вращении образца под магическим углом. Сходство полученного спектра со спектрами, генерированными в жидкости и пластических кристаллах, указывает на сходство механизмов возникновения ХПЯ в разных фазах.

Наиболее важными новыми результатами, полученными в диссертационной работе М. С. Панова, являются следующие:

- Методом ХПЯ с временным разрешением и по зависимости от напряженности магнитного поля были определены магниторезонансные параметры и структуры радикалов фотосенсибилизатора 3,3',4,4'-тетракарбоксибензофенона, аминокислот S-метилцистеина и гистидина, а также трипептида S-метилглутатиона.
- Определен механизм взаимодействия фотосенсибилизатора 3,3',4,4'-тетракарбоксибензофенона с аминокислотами тирозином и гистидином

- Были измерены сайт-специфичные константы равновесия выворачивания азотистых оснований из двойной спирали в тридекамерных ДНК-дуплеках для канонического и трех модифицированных образцов.
- Впервые был зарегистрирован спектр фото-ХПЯ  $^1\text{H}$  при вращении образца под магическим углом.

Диссертация содержит тщательно выполненные и подробно обсужденные данные, не оставляющие сомнений в их достоверности и обоснованности указанных выше выводов. Защищаемые положения не противоречат известным достижениям фундаментальных и прикладных научных дисциплин

Переходя к недостаткам работы, считаю необходимым сделать замечания общего характера:

а) Традиционно установление химического строения органических соединений в растворах основано на использовании современных подходов в ЯМР спектроскопии, таких двумерная ЯМР спектроскопия. Двумерные модификации гомо- и гетероядерной спектроскопии ЯМР (COSY, HSQC, HMBC, TOCSY, HSQC-TOCSY и др.) позволяют провести полное отнесение сигналов в спектрах ЯМР (как вариант на ядрах  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ ) и однозначно устанавливать химическую структуру органических соединений в растворах. К сожалению, обладая прямым доступом к современному ЯМР оборудованию (ЯМР спектрометр BRUKER AVANCE III HD 700), регистрируя на этом оборудовании спектры ЯМР исследуемых соединений, автор не всегда использует столь уникальные возможности этого спектрометра (исключение рисунок 55, где показано использование NOESY спектроскопии для решения задачи отнесения).

б) Отсюда вопросы, связанные с соотношением сигналов ЯМР на ядрах  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  исследуемых соединений. Предполагаю, что это проводилось с использованием литературных данных о параметрах ЯМР спектров, близких по химическому составу органических соединений.

в) К сожалению, есть претензии к оформлению рисунков в диссертации: стр. 12 – перенос подписи к рисунку на другую страницу; стр. 13 – не соответствуют



принятому межстрочные расстояния в подписи к рисунку; стр. 21 – подписи на самом рисунке на английском языке; стр. 28 – по тексту отсутствует структурная формула L – гистидина (нашлась на стр. 68) и т.п. ...

г) Несколько настораживает необычно большого размера текст актуальности темы исследования.

Указанные замечания, однако, не влияют на высокую в целом оценку работы и достоверность сделанных выводов.

Работа оформлена аккуратно, данные представлены в строгой логической последовательности и хорошо проиллюстрированы.

Автореферат и опубликованные статьи правильно и полно отражают содержание диссертации. Основные материалы диссертации опубликованы в виде 6-ти статей в международных рецензируемых журналах, входящих в список ВАК и реферируемых в Web of Science (WoS). Результаты работы прошли апробацию в виде докладов на 8 конференциях, включая международные. По моему мнению, автор работы продемонстрировал, что он является сформировавшимся исследователем-экспериментатором, способным ставить и решать значимые научные задачи в области химической физики.

Считаю, что диссертационная работа “Косвенное детектирование короткоживущих интермедиатов реакций с участием биологически важных молекул методом импульсного ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ ”, отвечает критериям п.9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013г., а ее автор, Панов Михаил Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 01.04.17 - химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Официальный оппонент

Клочков Владимир Васильевич

доктор химических наук, профессор



специальность 02.00.04 - физическая химия

Ведущий научный сотрудник научной лаборатории ЯМР кафедры медицинской физики института физики Федерального государственного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» ( ФГАОУ ВО КФУ)

420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18.

Тел. 8-9050-250-260.

Электронная почта: Vladimir.Klochkov@kpfu.ru,

23.12.2019

Согласен на включение моих персональных данных в документы,  
связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

