

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Связова Сергея Владимировича**

«Развитие методов ядерной спиновой гиперполяризации на основе параводорода: от получения контрастных агентов до обогащения ядерных спиновых изомеров этилена»,

представленной на соискание ученой степени

кандидата химических наук по специальности

1.3.17 – Химическая физика, горение и взрыв,

физика экстремальных состояний вещества

Диссертационная работа Связова С.В. выполнена в активно развивающейся области современной химической физики — методах ядерной спиновой гиперполяризации на основе параводорода, обеспечивающих преодоление фундаментального ограничения ЯМР и МРТ, связанного с малой разностью заселенностей ядерных спиновых уровней в условиях теплового равновесия. Работа объединяет три взаимосвязанных направления: исследование механизма парного присоединения водорода на гетерогенных и иммобилизованных катализаторах, изучение взаимопревращения ядерных спиновых изомеров этилена и разработку подходов к получению гиперполяризованных молекулярных зондов для магнитно-резонансных исследований.

Актуальность темы не вызывает сомнений. Низкая чувствительность ЯМР остаётся главным препятствием для применения метода к малым концентрациям веществ и для визуализации метаболических процессов в реальном времени, а параводород представляет собой наиболее доступный и воспроизводимый источник ядерного спинового синглетного порядка. Особую ценность работе придаёт то, что соискатель не ограничивается демонстрацией эффекта, а последовательно связывает структуру каталитических центров, стереохимию присоединения водорода и наблюдаемую спиновую динамику продукта. Отдельного внимания заслуживает направленность работы на расширение круга гиперполяризуемых биомолекул за пределы пирувата, на котором сегодня сосредоточено большинство исследований в области PHIP-SAH.

Научная новизна и практическая значимость работы, судя по автореферату, заключаются в следующем:

1. Впервые зарегистрированы усиленные сигналы ЯМР ^1H от ^{13}C этилена с природным содержанием ^{13}C в газовой фазе. Использование естественного нарушения симметрии изотопомером вместо синтеза меченого субстрата

- методически изящно и требует действительно высокой доли парного присоединения параводорода.
2. Наиболее сильной частью работы считаю предложенный метод оценки стереоселективности присоединения водорода к ацетилену по форме линий усиленных сигналов ЯМР продукта бромирования этилена. Различение паттернов АААЕЕЕ и АЕЕААЕ для Z- и E-этилена с последующей количественной оценкой доли син-присоединения (99,7; 92 и 55 % для трёх катализаторов) даёт стереохимическую информацию о гетерогенной реакции, получение которой классическими методами существенно затруднено. Этот подход имеет самостоятельную ценность, выходящую за рамки задач диссертации.
 3. Логически замкнутым является экспериментальный приём, при котором стереоселективный катализатор Ir-P@SiO₂, не создающий g : u дисбаланса изомеров, использован в качестве эталона для однозначного отнесения быстрой компоненты кинетики к уравниванию внутри классов инверсионной симметрии. Сочетание моноэкспоненциального спада на одном катализаторе и биэкспоненциального на двух других превращает результат в содержательное доказательство.
 4. Впервые методом PHIP-SAH гиперполяризованы аллил [¹³C]формиат и аллил [1,3-¹³C₂]ацетоацетат. Особо отмечу научную добросовестность изложения раздела 3.5: соискатель прямо констатирует, что получить биосовместимый гиперполяризованный ацетоацетат не удалось, анализирует причины (енолизация, разложение на ацетон и карбонат, быстрая релаксация в интермедиатах) и предлагает переориентацию на [¹³C]бикарбонат и сложные эфиры ацетоацетата. Корректно оформленный отрицательный результат в этой области представляет не меньшую ценность, чем положительный.
 5. Практически завершённым выглядит раздел 3.6: подход CASH-SABRE доведён до водного раствора [¹⁵N₃]метронидазола концентрацией около 32 мМ с P(¹⁵N) ≥ 2,2 % при независимом контроле остаточного иридия методом ИСП-АЭС. Измеренное время T₁ ≈ 12 мин для группы ¹⁵NO₂ в водной фазе представляет самостоятельный интерес.

Достоверность результатов обеспечена использованием комплекса взаимодополняющих экспериментальных подходов (ЯМР высокого разрешения, импульсные последовательности OPSY, перенос поляризации в слабых магнитных полях, ИСП-АЭС, МТТ-тест) в сочетании с теоретическим анализом спиновой динамики на основе формализма матрицы плотности. Результаты работы прошли апробацию в рецензируемых международных изданиях (*Physical Chemistry Chemical Physics*, *The Journal of Physical*

и доложены на восьми международных и российских конференциях, что подтверждает высокий уровень проведённых исследований.

Тем не менее, при ознакомлении с текстом автореферата возник ряд **вопросов и замечаний**, требующих пояснения:

1. Определённые из моделирования доли син-присоединения (99,7; 92 и 55 %) приведены без доверительных интервалов. Значение 55 % для катализатора Pd/TiO₂ близко к статистическому значению 50 %, и без оценки погрешности невозможно установить, отличается ли оно значимо от полного отсутствия стереоселективности.
2. Все растворы в работе приготовлены в дейтерированных средах (D₂O, NaOD, DCl, ацетон-d₆). Для биомедицинского применения потребуется переход в H₂O, что изменит как кинетику гидролиза, так и времена релаксации. Вопрос о переносимости полученных результатов на протонированные среды в автореферате не обсуждается.
3. Оценка биосовместимости водного раствора, полученного методом CASH-SABRE (раздел 3.6), представляется недостаточной. В связи с этим есть ряд уточнений:
 - 1) МТТ-тест проведён при инкубации в течение 1 часа, тогда как общепринятой является экспозиция 24–72 ч. За час выживаемость клеток может не измениться даже при заметной токсичности. Для однозначности вывода целесообразно повторить МТТ-тест при больших временах инкубации.
 - 2) Остаточное содержание иридия 20 ± 2 мкг/мл (≈ 100 мкМ) представляет собой довольно высокую концентрацию тяжёлого металла для исследований *in vivo*, и такой раствор нельзя считать «практически очищенным» без сопоставления с допустимыми уровнями. Целесообразно привести соответствующие нормативные или литературные показатели безопасности.
 - 3) Совершенно не обсуждается остаточный хлороформ. Растворимость CHCl₃ в воде составляет около 8 г/л, то есть водная фаза после контакта с CDCl₃ может содержать десятки миллимоль на литр гепатотоксичного растворителя при значениях ПДК в воде на уровне долей микромоля. Для работы, в которой биосовместимость вынесена в положение, выносимое на защиту, этот вопрос является более важным, чем содержание иридия. Определялось ли соискателем остаточное содержание хлороформа в полученных водных растворах? Кроме того, подобный раствор было бы интересно проанализировать на модельных линиях клеток печени, так как НЕК293Т, как справедливо указывает соискатель, клетки линии эмбриональной почки человека.

4. В работе метронидазол позиционируется как потенциальный агент для диагностики гипоксии. Однако механизм его селективного накопления предполагает одноэлектронное восстановление нитрогруппы нитроредуктазами до нитро-радикал-аниона, который в нормоксии реокисляется кислородом, а в гипоксии восстанавливается далее до нитрозо-, гидроксиламино- и аминопроизводных с последующим связыванием с макромолекулами. Отсюда два независимых вопроса. Во-первых, образование даже короткоживущего парамагнитного интермедиата непосредственно на молекуле-носителе поляризации должно приводить к чрезвычайно быстрой парамагнитной релаксации ядер ^{15}N . Не означает ли это, что сам акт «фиксации» метронидазола в гипоксической клетке уничтожает гиперполяризацию и регистрация продуктов восстановления принципиально невозможна? Во-вторых, характерное время ферментативного восстановления и накопления нитроимидазолов в клетках составляет десятки минут и часы, тогда как $T_1(^{15}\text{NO}_2) = 12$ мин. Существует ли временное окно, в котором продукт превращения может быть зарегистрирован? Наблюдались ли в спектрах сигналы каких-либо продуктов превращения метронидазола, или регистрировался исключительно исходный субстрат?
5. На странице 21 изложение представляется внутренне противоречивым: указано, что прекурсор и активированный катализатор SABRE «заметно не растворялись в воде», и тут же — что водная фаза оставалась «бесцветной или лишь слегка окрашенной». Растворяется вещество или нет, и если не растворяется, то чем обусловлена окраска? Отмечу, что вывод о нерастворимости катализатора сделан по качественному визуальному признаку при наличии у авторов количественных данных ИСП-АЭС, которыми его следовало обосновать. К этому же месту относится и арифметическое несоответствие: на с. 22 указано, что «концентрация Ir снижается примерно в 100 раз (с 10 мМ до 100 мкМ)», тогда как ранее концентрация прекурсора $[\text{Ir}(\text{IMes})(\text{COD})\text{Cl}]$ в CDCl_3 заявлена равной 5 мМ при соотношении объёмов фаз 1 : 1. Происхождение значения 10 мМ из текста установить невозможно, а при исходных 5 мМ снижение составляет примерно 50 раз.
6. В тексте автореферата имеется ряд числовых, терминологических и редакционных несоответствий:
- 1) характерное время внутриклассового уравнивания указано трижды и по-разному: «около 10 с» (с. 6, раздел «Научная новизна»), «3–6 с» (положение 1) и $6,5 \pm 0,5$; $5,6 \pm 0,3$; $3,0 \pm 0,4$ с (текст раздела 3.3). Происхождение значения

«около 10 с» неясно; корректнее было бы указать «около 5 с». В выводе 3 численное значение короткого времени вовсе отсутствует;

- 2) подпись к рисунку 8 сообщает о гиперполяризации «с помощью метода SABRE-SHEATH», тогда как весь раздел 3.6 посвящён подходу CASH-SABRE;
- 3) на с. 13–14 обозначение катализатора продублировано: «катализатор на основе иридия (Ir-P@SiO_2), который был исследован в предыдущем разделе (Ir-P@SiO_2)»;
- 4) аббревиатуры MFC, OPSY, PASADENA, CASH, MATRESHCA, SE не расшифрованы ни при первом употреблении, ни далее по тексту. Особенно это касается MFC, представляющего собой ключевой методический элемент разделов 3.4–3.5;
- 5) в выводе 4 нарушено согласование: «гиперполяризованный аллил $[1,3\text{-}^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата гидролизует» вместо «ацетоацетат»; в положении 2 утеряна открывающая квадратная скобка («аллил $1,3\text{-}^{13}\text{C}_2$]ацетоацетат»); на с. 18 отсутствует пробел в сочетании «аллил ^{13}C]формиата»; род аббревиатуры ИППЯ по тексту непостоянен («гетерогенного ИППЯ» и «гетерогенной ИППЯ»), тогда как по опорному слову «поляризация» корректен женский род; формулировка «достоверность... обеспечивалась применением методов, гарантирующих высокую воспроизводимость» неточна, поскольку методы воспроизводимость не гарантируют — её обеспечивает корректность их применения.

Сделанные замечания носят дискуссионный или уточняющий характер, не затрагивают основных выводов работы и не снижают её общей высокой оценки. Диссертационная работа Связова С.В. является завершённым научно-квалификационным трудом, в котором решена важная задача развития методов гиперполяризации на основе параводорода, получены новые данные о взаимопревращении ядерных спиновых изомеров этилена и разработаны подходы к гиперполяризации ряда биологически значимых молекул.

Судя по автореферату, диссертация **«Развитие методов ядерной спиновой гиперполяризации на основе параводорода: от получения контрастных агентов до обогащения ядерных спиновых изомеров этилена»** полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, а ее автор, **Связов Сергей Владимирович**, заслуживает присуждения

степени кандидата химических наук по специальности 1.3.17 – Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Я, Украинцев Александр Андреевич, даю согласие на включение и дальнейшую обработку своих персональных данных при подготовке документов аттестационного дела соискателя учёной степени.

Украинцев Александр Андреевич

Кандидат химических наук

Специальность 1.4.9. – Биоорганическая химия

Научный сотрудник лаборатории биоорганической химии ферментов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д. Г. Кнорре Сибирского отделения

Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН)

630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8.

Тел.: +7 (383) 363-51-96

Электронная почта ukraintsev_aa@ibio.ru



07.09.2026

Подпись Украинцева А.А. заверяю

Учёный секретарь ИХБФМ СО РАН



Логашенко Евгения Борисовна