

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.150.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
НАУКИ ИНСТИТУТА ХИМИЧЕСКОЙ КИНЕТИКИ И ГОРЕНИЯ
ИМ. В. В. ВОЕВОДСКОГО СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 06.11.2024, № 21

О присуждении Журавлевой Юлии Сергеевне, гражданке Российской Федерации, учёной степени кандидата химических наук.

Диссертация *«Механизмы повреждения аминокислоты триптофан в результате радикальных реакций, фотоиндуцированных кинуреновой кислотой»* в виде рукописи по специальности 1.3.17. «Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества» принята к защите 9 июля 2024 г., протокол № 15, диссертационным советом 24.1.150.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН), Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 630090, г. Новосибирск, ул. Институтская, д. 3, приказ о создании диссертационного совета № 1511/нк-от 25.11.2016 года.

Соискатель, *Журавлева Юлия Сергеевна*, 1996 года рождения, на момент защиты диссертации работает в должности младшего научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института «Международный томографический центр» Сибирского отделения Российской академии наук (МТЦ СО РАН). В 2024 году соискатель окончил аспирантуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (НГУ). С 2019 года Ю.С. Журавлева работает в МТЦ СО РАН.

Диссертация выполнена в Лаборатории магнитного резонанса биомолекул и наноматериалов МТЦ СО РАН.

Научный руководитель – кандидат физико-математических наук **Шерин Петр Сергеевич**, старший научный сотрудник группы фотоиндуцированных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт «Международный томографический центр» Сибирского отделения Российской академии наук (МТЦ СО РАН), г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. доктор химических наук **Мерещенко Андрей Сергеевич**, доцент кафедры лазерной химии и лазерного материаловедения Института химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (СПбГУ), г. Санкт-Петербург;

2. кандидат физико-математических наук **Селютина Ольга Юрьевна**, старший научный сотрудник лаборатории магнитных явлений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН), г. Новосибирск – дали *положительные отзывы* на диссертацию.

Ведущая организация, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ РАН), г. Москва, в своём **положительном заключении**, подписанном главным научным сотрудником, доктором химических наук, **Татьяной Дмитриевной Некипеловой**, утверждённом директором ИБХФ РАН, доктором химических наук **Курочкиным Ильей Николаевичем**, указала, что данная диссертационная работа удовлетворяет требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения учёных степеней», утверждённом Постановлением правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в текущей редакции), а её автор, Журавлева Ю.С., заслуживает присвоения ей

искомой учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.3.17. «Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества».

В положительном заключении ведущей организации имеются следующие замечания и вопросы.

- (1) В конце литературного обзора слишком расплывчато формулируются задачи диссертационной работы, которые должны следовать из проведенного обзора литературы.
- (2) Недостатком автореферата является несоответствие нумерации частей автореферата главам диссертации.
- (3) В работе есть стилистические погрешности, особенно в автореферате. Очень частое употребление слова «данный» вместо «этот», например, в двух последних предложениях обзора оно употребляется 4 раза, когда можно было обойтись вообще без него.

Соискатель имеет семь научных работ (из них четыре – по теме диссертации), опубликованных в международных рецензируемых научных изданиях, входящих в список ВАК. Пять работ опубликованы в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумов.

Научные работы по теме диссертации:

1. **Zhuravleva Y.S.**, Morozova O.B., Tsentalovich Y.P., Sherin P.S. Proton-coupled electron transfer as the mechanism of reaction between triplet state of kynurenic acid and tryptophan // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. – 2020. – Vol. 396. – P. 1-6. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2020.112522.
2. **Zhuravleva Y.S.**, Sherin P.S. Influence of pH on radical reactions between kynurenic acid and amino acids tryptophan and tyrosine. Part I. Amino acids in free state // Free Rad. Biol. Med. – 2021. – Vol. 172. – P. 331-3396. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.06.015.
3. **Zhuravleva Y.S.**, Sherin P.S. Influence of pH on radical reactions between kynurenic acid and amino acids tryptophan and tyrosine. Part II. Amino

acids within the protein globule of lysozyme // Free Rad. Biol. Med. – 2021. – Vol. 174. – P. 211-224. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.08.001.

4. Morozova O.B., **Zhuravleva Y.S.**, Geniman M.P., Yurkovskaya A.V., Sherin P.S. Disproportionation and dimerisation of kynurenic acid under UV light // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. – 2023. – Vol. 445. – P. 445. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2023.115009.

На автореферат диссертации поступило 4 отзыва. Все отзывы положительные, из них 3 содержат замечания. Отзывы поступили от:

- кандидата химических наук **Матвеевой Анны Геннадьевны**, научного сотрудника лаборатории химии и физики свободных радикалов ИХКГ СО РАН;
- доктора химических наук **Казанцева Максима Сергеевича**, заведующего лабораторией органической электроники Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук;
- кандидата химических наук **Марковской Дины Валерьевны**, научного сотрудника Отдела гетерогенного катализа Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук»;
- доктора биологических наук **Муранова Константина Олеговича**, ведущего научного сотрудника ИБХФ РАН.

Из отзывов на автореферат один не содержит замечаний (**Матвеева А.Г.**). В остальных имеются следующие вопросы и замечания: (1) об отсутствии в автореферате пояснений, какая именно информация представлена в третьей и седьмой главах диссертационного исследования, (2) об отсутствии спектра промежуточного поглощения после 80 нс после поглощения лазерного

импульса на Рис. 1.1 (А); (3) об отсутствии структурных формул основных участников описываемых процессов. (*Марковская Д.В.*); кроме того есть ряд замечаний рекомендательного характера (*Казанцев М.С., Муранов К.О.*), 1) о целесообразности изучения радикальных интермедиатов методом ЭПР-спектроскопии и 2) не совсем удачном выборе лизоцима в качестве модельного белка, так как данный белок склонен к образованию ассоциатов в среде с нейтральным рН.

В **положительных отзывах** оппонентов имеются следующие замечания и вопросы:

Селютина О.Ю.:

- В литературном обзоре обсуждается роль кинуреновой кислоты в организме, её фотохимические свойства, упоминается что она также содержится в хрусталике глаза человека в концентрациях 0.4-0.6 мМ. Однако для лучшего понимания, хорошо было бы привести эти концентрации в сравнении с примерным содержанием триптофана в хрусталике;
- оценка ферментативной активности лизоцима проводилась методом турбодиметрии, по светорассеянию. Данный метод является недостаточно точным, и было бы желательно подтвердить полученные результаты более точным количественным методом;
- полученные данные о влиянии рН среды на механизмы фотоиндуцированных процессов дают фундаментальное представление о механизмах фотоиндуцированных реакций с участием триптофана, однако возникает вопрос о физиологической роли низких значений рН (~3) в реальных живых системах.

Мерещенко С.А.:

- на Рисунке 3.1 (А) диссертации приведены кинетические кривые, отражающие ускорение протонирования образующегося нейтрального радикала триптофана в кислой среде по мере увеличения концентрации

протонов в растворе. При этом при рН 2.9 характерный рост сигнала, отражающий этот процесс, исчезает. Является ли этот факт следствием того, что скорость протонирования радикала в среде с низким значением рН достигла настолько высоких значений, что не может быть разрешима в эксперименте? Не может ли это быть следствием изменения механизма тушения в сильноокислой среде?

- раздел 3.2. Стр. 50-51. При установлении механизма реакции между триплетным состоянием кинуреновой кислоты (KNAH^-) и триптофана (TrpH) в разделе 3.2. вначале следовало бы обсудить спектр нестационарного поглощения (ТА), а затем приводить зависимости кинетических кривых от рН.
- раздел 3.2. Стр. 53. Стоило бы измерить спектры нестационарного поглощения (ТА) при различных рН аналогично кинетическим кривым для подтверждения предложенного механизма.
- в разделе 5.2 титрование катион-радикала триптофана в составе белка лизоцима было проведено в приближении существования лишь одного кислотно-основного равновесия. Говорит ли это о том, что в реакции между триплетным состоянием кинуреновой кислоты и белком радикальный центр в составе белка образуется лишь на одном виде аминокислотных остатков триптофана? Если это так, то каким образом можно объяснить тот факт, что среди поврежденных продуктов присутствует несколько разных аминокислотных остатков триптофана?
- для установления механизма УФ-индуцированного диспропорционирования KNAH^- в разделе 6.2 при измерении спектров нестационарного поглощения ТА использовано лазерное излучение с энергией импульса 5 мДж, а кинетические кривые на 590 нм были получены для двух энергий – 1 и 3 мДж. Чем обусловлено использование меньших энергий импульса при измерении кинетических кривых? Стоило бы измерять спектры ТА и кинетические кривые при одной энергии импульса накачки, а также

получить зависимость амплитуды ТА спектров и их формы от мощности с использованием ещё нескольких значений энергии импульса. Как бы выглядело при этом значение амплитуды ТА от мощности в рамках предложенного механизма?

- в Главе 7 диссертации выход супероксида в реакции окисления радикала кинуреновой кислоты кислородом был оценен с помощью кинетической схемы реакций, согласующейся наилучшим образом с экспериментальными кинетиками гибели радикала триптофана. В то же время вывод о неполном восстановлении KNAH^- в этой реакции был изначально сделан на основе наблюдения выгорания основного состояния вещества в спектре промежуточного поглощения. Возникает вопрос, почему выход супероксида не был рассчитан на основе спектральной информации о выгорании/восстановлении KNAH^- , что выглядит намного более простым подходом, нежели использование сложной аппроксимации кинетических данных.

Во всех отзывах отдельно отмечается, что указанные замечания не снижают научной и практической значимости диссертационной работы. Все отзывы заканчиваются выводом, что диссертационная работа Журавлевой Ю.С. **полностью соответствует** требованиям, которые ВАК предъявляет к кандидатским диссертациям, а её автор – Журавлева Ю.С. – заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.3.17. «Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью оппонентов и сотрудников ведущей организации в области фотохимии и фотофизики, спектроскопии короткоживущих интермедиатов, а также кинетики переноса электрона, протона и атома водорода, что подтверждается наличием у них публикаций ряда научных работ в данной области исследований, в том числе

соответствующих тематике диссертационного исследования соискателя и опубликованных в ведущих российских и международных журналах и изданиях.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- *показано*, что реакция между триплетным состоянием кинуреновой кислоты (${}^3\text{KNAH}^-$) и триптофаном (TrpH) протекает по механизму последовательного переноса электрона и протона от TrpH к ${}^3\text{KNAH}^-$, при котором протон переносится непосредственно к акцептору электрона, ${}^3\text{KNAH}^-$, без участия растворителя.

- *установлено*, что степень фотоиндуцированного повреждения свободного TrpH снижается при уменьшении pH водной среды, что связано с более выраженными окислительными свойствами катион-радикала TrpH по сравнению с нейтральным радикалом TrpH. При этом *показано*, что кислотно-основное равновесие радикала TrpH в составе белка лизоцима куриного яйца **не** оказывает существенного влияния на степень фотоиндуцированного повреждения белка. По сравнению со случаем аминокислот в свободном состоянии, для радикальных реакций триптофановых и тирозиновых остатков в составе белка повышается конкуренция между реакциями димеризации и ковалентного присоединения атома кислорода к аминокислотным остаткам.

- *продемонстрировано* протекание реакции фотоиндуцированного диспропорционирования KNAH^- , которая является источником ранее неизвестной формы радикала KNAH^- , способного вступать во взаимодействие с другими подобными радикалами с образованием димерных продуктов;

- *установлено*, что выход продуктов ковалентного присоединения атомов кислорода к TrpH в реакции между радикалом TrpH и супероксид-анионом близок к 100%, что делает данную реакцию опасным источником повреждения TrpH. Подтверждение механизма реакции было впервые

проведено с помощью исследования кинетики не только радикальных частиц, но и основных состояний реагентов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что в результате проделанной работы были существенно углублены знания о механизмах и продуктах первичных фотохимических процессов, приводящих к образованию радикалов TrpH, а также последующих радикальных реакций, приводящих к образованию необратимых модификаций TrpH. Полученная информация дополняет понимание роли условий окружающей среды (рН, концентрация молекулярного кислорода) в развитии различных заболеваний, связанных с воздействием активных форм кислорода и ультрафиолетового излучения.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики заключается в расширении знаний о биологически значимых радикальных реакциях, которые в дальнейшем могут быть использованы другими исследователями для разработки стратегий защиты клеток от окислительного повреждения. Кроме того, полученные знания могут быть полезны для разработки методов получения биологически значимых продуктов модификации TrpH в количествах, достаточных для дальнейшего изучения их биохимических свойств. Знания о химических и спектроскопических свойствах ранее неизвестной радикальной формы KNAH^- могут быть полезны для понимания механизма доказанной антиоксидантной активности этого метаболита человека.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что: сделанные выводы и полученные научные результаты основаны на квалифицированном применении современных экспериментальных методов оптической стационарной и времяразрешенной спектроскопии, а также хромато-масс-спектрометрического анализа; для проверки выводов и высказанных предположений использован широкий набор контрольных и вспомогательных экспериментов, а также применена математическая

обработка кинетических данных для сложных многостадийных процессов. Результаты работы прошли экспертизу перед опубликованием в научных журналах и неоднократно обсуждались на отечественных и международных конференциях с известными специалистами, работающими в области фотохимии и фотобиологии.

Личный вклад соискателя состоит в поиске, анализе и обобщении литературных данных по теме исследования, проведении экспериментов с использованием лазерного импульсного фотолиза и дальнейшей математической обработке кинетических данных, проведении фотолиза и последующего хроматографического анализа как с масс-спектрометрическим, так и с оптическим детектированием продуктов, проведении электрофореза и анализа ферментативной активности белка, подвергнутого фотоиндуцированному повреждению. Соискатель принимал непосредственное участие в постановке научных задач, решаемых в данной диссертационной работе, разработке плана исследований, анализе и обсуждении полученных результатов исследований, формулировке выводов. Подготовка статей проводилась автором совместно с научным руководителем и соавторами работ.

Диссертация выполнена на высоком научном уровне и представляет собой законченное исследование с актуальными задачами и содержательными, фундаментальными и практически важными результатами. Материалы диссертации соответствуют пунктам 1 («механизмы химического превращения, экспериментальные методы исследования структуры и динамики химических превращений») и 9 («строение, структура и реакционная способность интермедиатов химических реакций») паспорта специальности 1.3.17. «Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества» для химической отрасли науки.

Соискатель Журавлева Ю.С. успешно ответила на все задаваемые ей вопросы присутствующими на заседании, на замечания, приведенные в

отзыве ведущей организации и отзывах на автореферат. Соискатель дала четкие аргументированные ответы по научным вопросам и согласилась со всеми техническими замечаниями и пожеланиями.

На заседании 6 ноября 2024 г. диссертационный совет постановил: за решение научной задачи по определению механизмов повреждения аминокислоты триптофан в результате фотоиндуцированных кинуреновой кислотой радикальных реакций в условиях различных значений pH водных растворов и концентраций молекулярного кислорода присудить *Журавлевой Юлии Сергеевне* учёную степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 6 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании и голосовании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени - 20, против присуждения учёной степени - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель диссертационного совета,

д-р хим. наук, доцент

Онищук Андрей Александрович

Ученый секретарь диссертационного совета,

канд. хим. наук

Поздняков Иван Павлович



08.11.2024 г.