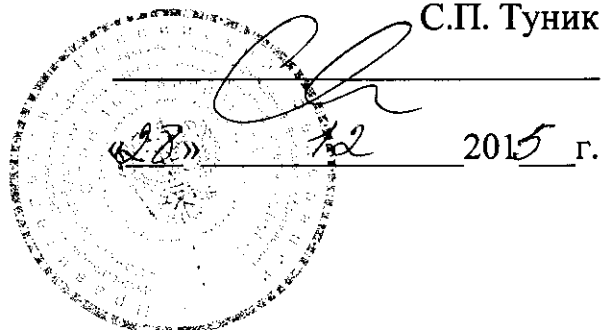


«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе
Санкт-Петербургского
государственного университета
С.П. Туник



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию **Рахматуллина Ильфата Зуфаровича**
«Пространственное строение и внутримолекулярная подвижность
некоторых биологически активных веществ (производные
пиридоксина, статины) по данным методов ЯМР спектроскопии»
представленную на соискание ученой степени кандидата
физико-математических наук по специальности
01.04.07 – физика конденсированного состояния

Кандидатская диссертация И.З. Рахматуллина посвящена применению методик спектроскопии ЯМР (динамический ЯМР, спектроскопия NOESY, DOSY и др.) для изучения группы конформационно-мобильных органических молекул, необходимых для жизнедеятельности человека. Исследовались два класса соединений: замещенные пиридоксина (производные витамина В₆) и два разных статина (правастатин и симвастатин; приводят к снижению концентрации холестерина). Вещества изучались в растворах в органических растворителях и в воде. Конечной целью работы являлась оценка высот энергетических барьеров пространственной изомерии между различными конформерами этих молекул. Результаты экспериментального исследования дополнительно сверялись с результатами квантово-механических расчетов. В дополнение к основной цели рассмотрено строение комплексов статинов с мицеллами и бимицеллами на основе поверхностно-активных веществ, рассматриваемыми как простые модели клеточных мембран. Синтез пиридоксинов и статинов, а также их биологическая активность напрямую в

работе не изучались. Можно сказать, что вещества рассматривались прежде всего как модели для приложения методов ЯМР.

Следует отметить, что конформационная мобильность биологически-важных веществ – это **актуальная тема исследования**, т.к. пространственное строение молекул влияет на их реакционную способность в биохимических процессах, в том числе на молекулярное распознавание. В этой области исследований динамический ЯМР занимает уникальное место, т.к. служит источником информации о константах скоростей конформационного обмена (в том числе вырожденного) в диапазоне примерно $10^{-1} \div 10^5$ Гц, часто труднодоступном для других методов анализа.

В представленной кандидатской диссертации И.З. Рахматуллина существующий арсенал ЯМР-методик определения пространственного строения и динамики органических молекул применен на высоком уровне. Несмотря на то, что основные теоретические вопросы динамического ЯМР и спектроскопии NOESY рассмотрены в литературе весьма подробно и не представляют принципиальных сложностей, их практическое применение в случае достаточно сложных молекул зачастую оказывается весьма непростым и требует от экспериментатора высокой квалификации. **Научная новизна** определяется тем, что в работе впервые успешно определены термодинамические параметры конформационного обмена между формами кресло-твист и твист-твист пиридоксина с учетом заторможенного вращения динитрофенильного фрагмента, и получены первые данные о строении комплексов статинов с мицеллами и бимицеллами ПАВ.

Теоретическая значимость исследовательской работы И.З. Рахматуллина заключается в описании конформационных переходов в семичленном цикле пиридоксина (более сложный случай, чем в ранее описанных 1,3-диокса-5,6-бензциклогептенах), а **практическая значимость** обусловлена тем, что примененные алгоритмы спектрального анализа могут быть распространены и на другие системы. Используемую методологию можно предложить в качестве шаблона для дальнейшей работы, не ограниченной только пиридоксинами или статинами.

Кандидатская диссертация И.З. Рахматуллина состоит из введения, четырех глав, выводов и списка использованной литературы.

Во введении обоснованы выбор темы и объектов исследования, сформулирована актуальность и значимость работы, ее научная новизна, описан личный вклад автора. Показана связь представленной работы с исследованиями, которые ведутся на кафедре медицинской физики и в лаборатории ЯМР-спектроскопии в Казанском федеральном университете.

В первой главе дан обзор основных положений и уравнений теории динамического ЯМР и спектроскопии NOESY, используемых в дальнейшей

работе. Подробно описана методика определения константы скорости двухпозиционного вырожденного обмена по форме сигнала в спектре ЯМР и схема оценки межъядерных расстояний по величинам интегральных интенсивностей кросс-пиков в спектрах NOESY. Кратко упомянут метод DOSY.

Во второй главе подробно описано применение на практике, в основном в медицине, основных объектов исследования – пиридоксинов и статинов. Отмечена роль пиридоксинов в профилактике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний, а также в такой неочевидной области как нелинейно-оптические кристаллы. Приводятся данные о том, что конкурентное ингибирование статинами ГМГ-КоА редуктазы приводит к снижению внутриклеточной концентрации холестерина и уменьшает риск возникновения атеросклероза.

Основные данные работы приведены в третьей и четвертой главах. **В третьей главе** сначала приводится описание литературных данных по химическому обмену в 1,3-диокса-5,6-бензциклогептенах, что позволяет ввести необходимые обозначения и терминологию. После этого представлены первичные экспериментальные данные, прежде всего ^1H спектры ЯМР, четырех пиридоксинов в растворе в $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ и проведен анализ температурно-зависимых форм сигналов в предположении одного или двух двухпозиционных обменов: вращение динитрофенильного кольца и обмен кресто-твист. Для некоторых соединений построены графики зависимости константы скорости обмена от температуры. Приведены таблицы полученных значений свободных энергий Гиббса обменивающихся конформеров и свободных энергий активации. Дополнительное подтверждение предложенной интерпретации получено при помощи квантово-механических расчетов энергий конформеров (энергия активации обмена кресло-твист при этом не рассчитывалась).

В четвертой главе обоснован выбор поверхностно-активных веществ в качестве моделей клеточных мембран и приведены ^1H спектры ЯМР растворов исследуемых статинов и их смесей с ПАВ в D_2O и $\text{DMSO}-d_6$. Факт взаимодействия статинов и ПАВ обнаружен по наличию соответствующих кросс-пиков в спектрах 2D NOESY и по совпадению коэффициентов диффузии статинов и ПАВ в спектрах DOSY. Сделана попытка оценить межатомные расстояния в межмолекулярных комплексах по величине интегральной интенсивности кросс-пиков. Показано, что правастатин в основном остается на поверхности мицелл, тогда как симвастатин проникает внутрь мицеллы, что хорошо коррелирует с растворимостью этих статинов в воде.

При несомненной общей положительной оценке диссертационной работы необходимо сделать следующие замечания:

1. Неусредненные (т.н. intrinsic) химические сдвиги сигналов обменивающихся протонов зависят от температуры (например, рис. 3.7 и 3.10),

при этом может меняться $\Delta\nu$ и, как следствие, оценка константы скорости k . Температурная зависимость химических сдвигов в работе не обсуждается (например, для удобства на ряде рисунков спектры сдвинуты так, чтобы максимумы сигналов совпадали, что не упомянуто в подписях). Для соединений III, IV и VI не приведены рассчитанные обменные спектры и полученные из анализа форм линий зависимости $\ln(k/T)$ от T^{-1} .

2. Данные по межатомным расстояниям в комплексах статинов с мицеллами могут считаться только оценочными из-за сделанных при анализе предположений: время корреляции для исследуемой пары такое же, как для калибровочной пары, комплекс имеет единственную определенную структуру (жесткий) и время жизни комплекса заметно превышает время смешивания

3. Неясны детали *ab initio* расчетов. В тексте не упомянут точный метод расчета (HF, MP2 или др.) и то, проверялись ли структуры на истинность энергетического минимума (положительные рассчитанные колебательные частоты).

4. Среди технических недочетов можно отметить то, что в тексте использованы некоторые небрежные термины («ширина спектра» вместо ширины сигнала, «значение тензора» вместо среднего значения главных компонент тензора, «квадруплет» вместо дублета дублетов и т.д.). Экспериментальные детали разбросаны по тексту и их сложно найти (для пиридоксина в разделе 1.1, для статинов частично в разделе 1.3 и частично в разделе 2.2).

Отмеченные замечания не снижают высокой оценки диссертации.


Диссертация представляет собой законченное научное исследование, направленное на решение актуальной задачи. Результаты исследования отражены в 4 публикациях в профильных рецензируемых журналах (3 *Magnetic Resonance in Chemistry*, 1 *Journal of Molecular Structure*), докладывались на всероссийских и международных конференциях. Тот факт, что большинство материала, представленного в работе, опубликовано в реферируемых журналах является несомненным достоинством диссертации. Автореферат правильно и достаточно полно отражает основное содержание диссертации. Тема исследования соответствует заявленной научной специальности. Полученные лично автором спектральные данные, их интерпретация, а также сопутствующие квантово-механические расчеты являются новыми. Выводы работы хорошо обоснованы. Достоверность полученных результатов обеспечивается четкой формулировкой поставленных задач, использованием современного экспериментального оборудования, подходов, ранее апробированных на аналогичных системах, а также согласием полученных результатов с имеющимися в литературе данными других экспериментальных исследований.

Результаты работы могут быть использованы в научной работе профильных учреждений, таких как: Санкт-Петербургский государственный университет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Казанский федеральный университет, Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Институт проблем химической физики РАН, Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова РАН, Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН.

Оценивая работы в целом можно заключить, что диссертация И.З. Рахматуллина «Пространственное строение и внутримолекулярная подвижность некоторых биологически активных веществ (производные пиридоксина, статины) по данным методов ЯМР спектроскопии» представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, которая соответствует всем требованиям и критериям, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук, установленным в пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а автор, Ильфат Зуфарович Рахматуллин, заслуживает присуждения искомой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.07 – физика конденсированного состояния.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры физической органической химии СПбГУ, протокол № 91.08/8-04-9 от «22» декабря 2015 г.

Отзыв составил к.ф.-м.н., доц. каф. физической органической химии, директор ресурсного центра «Магнитно-резонансные методы исследования» Научного парка СПбГУ

 П.М. Толстой

Сведения о ведущей организации:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9
Телефон: +7 (812) 328-20-00
e-mail: spbu@spbu.ru

