

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу **Кашник Анны Станиславовны**
«Взаимодействие молекул лекарственных препаратов с модельными липидными мембранами по данным двойного электрон-электронного резонанса спиновых меток», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.17 – Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Многие жизненно важные процессы в организме протекают в клеточных мембранах с участием в них гостевых молекул, и причиной многих заболеваний является нарушение мембранных функций. Малые гостевые молекулы, такие как нестероидные противовоспалительные препараты или антимикробные пептиды, при включении их в липидную матрицу, могут изменять физические свойства мембраны. Эти изменения, в свою очередь, могут повлиять на ее нормальное функционирование. Молекулярные аспекты взаимодействия лекарственных препаратов с мембраной во многом пока не поняты и требуют всестороннего изучения. Более того, в связи с растущей резистентностью болезнетворных бактерий к существующим антибиотикам необходим поиск новых препаратов, к которым бактериям будет сложнее выработать устойчивость. Тема диссертации, несомненно, актуальна как в фундаментальном, так и в прикладном смысле. Полученные данные могут быть использованы для дальнейшего изучения антимикробного действия пептидов и внедрения их в клиническую практику.

Диссертационная работа Кашник А.С. посвящена изучению процессов связывания и взаимодействия антимикробных пептидов и нестероидных противовоспалительных препаратов с модельными биологическими мембранами по данным спектроскопии магнитного резонанса. В работе впервые использованы спин-меченные нестероидные противовоспалительные препараты, такие как ибупрофен, аспирин, диклофенак. В качестве спиновых меток выступали нитроксильные радикалы.

Диссертация общим объемом 143 страницы состоит из введения, 6 глав, выводов, списка сокращений, списка литературы из 217 наименований, списка публикаций автора по теме диссертации и приложения. Работа содержит 69 рисунков и 3 таблицы (приложение).

Во введении обоснованы актуальность работы, цели и задачи исследования, научная новизна, практическая и теоретическая значимость диссертации, приведены выносимые на

защиту положения, сведения о личном вкладе соискателя, данные об апробации работы и благодарности.

Первая глава диссертации представляет собой достаточно подробный литературный обзор, состоящий из 7-ти частей. Подробно рассмотрены биологические объекты такие как мембраны, пептиды, нестероидные противовоспалительные препараты и другие. Приведены подробные описания стационарной и импульсной магнитно-резонансных методов.

Вторая глава диссертации содержит информацию о конкретных веществах используемых в работе и применяемых методиках.

В третьей главе исследуется влияние антимикробного пептида хальципорина А на пространственное распределение и кластеризацию спин-меченых стеариновых кислот в модельных фосфолипидных мембранах с помощью метода двойного электрон-электронного резонанса (ДЭЭР).

В четвертой главе методы электронного спинового эха и ядерного магнитного резонанса применены для изучения спин-меченых молекул лекарств. Установлено, что спин-меченый ибупрофен в отсутствие холестерина локализуется в гидрофобной части липидного бислоя вблизи двойной связи независимо от типа мембраны. Но при добавлении холестерина к модельной мембране происходит смещение спин-меченого ибупрофена из центра бислоя в положения, более близкие к его поверхности.

В пятой главе исследуется взаимодействие спин-меченых ибупрофена и диклофенака с модельной фосфолипидной мембраной с помощью спектроскопии ДЭЭР. Обнаружено формирование в мембранах нанокластеров спин-меченых ибупрофена и диклофенака, выявлены особенности их пространственного распределения.

В шестой главе изучалось влияние липидных рафтов на пространственное распределение и кластеризацию спин-меченых молекул ибупрофена и диклофенака в модельных фосфолипидных мембранах методом ДЭЭР. ДЭЭР для спин-меченного диклофенака в модельной системе бислоев DOPC/DPPC/холестерин указывают на кластеризацию молекул лекарства. В присутствии холестерина (20 мол %), для которого предполагается формирование липидных рафтов, диклофенак образует квазирегулярные структуры. Образование квазирегулярных структур объясняется захватом спин-меченного диклофенака липидными рафтами.

В заключительной части сформулированы основные выводы работы.

Методическая и научная части диссертации органично связаны и составляют единую цельную работу, причем полученные результаты были бы невозможны без тщательного выполнения технологической и методической части диссертации. В работе были использованы современные методы ЭПР и ЯМР спектроскопии, в частности метод ДЭЭР. Которые являются весьма чувствительными методами для изучения подобных структур. Работа оформлена аккуратно, хорошо структурирована, материал представлен в правильной логической последовательности. Качественные иллюстрации дополняют основной текст и облегчают понимание полученных результатов.

По работе у меня есть ряд замечаний:

1. При оперировании таким понятием как «взаимное пространственное распределение» хотелось бы, чтобы автор точнее пояснил, что он под этим подразумевает.
2. На стр. 31 не совсем понятно, вокруг чего вращается переменное магнитное поле B_1 с частотой ν_1 .
3. На стр. 31 автор указывает, что взаимодействие переменного магнитного поля с магнитным моментом тем больше, чем частота ν_1 ближе к ν_0 , что в свою очередь является неверным утверждением.
4. На стр. 33 в формуле 12 допущена ошибка вместо $\cos^2\theta$ указано $\cos^2\varphi$.
5. На стр. 35-36 указано, что микроволновый резонатор предназначен для создания микроволнового магнитного поля, что является неверным утверждением.
6. На ряде рисунков по оси ординат используются непривычные единицы измерения, так для стационарных спектров ЭПР амплитуда сигнала указана в мТл^{-2} , а амплитуда Фурье-преобразования в МГц^{-1} (например, страницы 39, 84, 98, 102). Если эти величины имеют физический смысл, хотелось бы, чтобы автор дал какое-то пояснение почему так, а не иначе.
7. На ряде рисунков, касающихся применению метода ДЭЭР, по оси ординат не указана нормировка на амплитуду сигнала эха в начальный момент времени, например на стр. 56.
8. Опечатки на стр. 44 в индексах r_v от r_b в формулах 24-28. На стр. 56 на рисунке 31 по оси абсцисс время t , хотя для рисунков А и Б зависимость от t , тогда как для В и Г – от T .
9. На стр. 84 перепутаны описания к рисункам 49А и 49Б.

10. На стр. 103 некорректно отмечено, что «На этом же Рисунке приведены результаты моделирования спектров CW ЭПР с учетом значения $\sigma_{\text{local}}...$ ». Обычно под результатом моделирования спектра подразумевается представление самого спектра, автор же имеет ввиду параметры, полученные при моделировании.
11. На стр. 21 в предложении «Циклооксигеназа является связанным с мембраной энзимом, поэтому чтобы проявить свою терапевтическую активность...» опечатка – пропущена запятая перед союзом **чтобы**.
12. На стр. 31 указано, что ядро азота имеет спин $I = 1$. Это верно, но только для изотопа ^{14}N , для изотопа ^{15}N спин ядра равен $1/2$.
13. На стр. 33 в формулах 11 и 12 лишние скобки.
14. На стр. 39 неудачное выражение «... поле спектрометра X-диапазона ЭПР...», на стр. 52 некорректное выражение «...величина уменьшения мощности составляла 25 дБ...», правильно – «ослабление».
15. На стр.32 в тексте проекция ядерного спина обозначается через I , а на рисунке 16 обозначено через J .
16. На стр. 40 неудачное выражение «...сверхтонкий тензор может быть выражен в виде...», правильно все-таки «тензор сверхтонкого взаимодействия»
17. По тексту некоторые обозначения трансформируются, так, например магнетон Бора обозначается и как β и как μ_B (например стр. 44, стр. 47). Также в тексте встречаются названия CW ЭПР и стационарный ЭПР. Хотелось бы, чтобы автор придерживался единого формата.
18. На стр. 51 опечатка в написании аминокислотной последовательности вместо Ala указано Ala5.
19. На стр. 115 приведен список сокращений что-то приведено по-английски, что-то по-русски, нет единства обозначений. Например, NOESY – nuclear Overhauser effect spectroscopy, а NOE – ядерный эффект Оверхаузера, при этом PRE – Paramagnetic Relaxation Enhancement, усиление парамагнитной релаксации в ЯМР.

Однако, несмотря на указанные замечания, считаю, что диссертация Кашник А. С. выполнена на высоком современном уровне, является цельным и законченным исследованием. Название работы соответствует ее содержанию, автореферат и опубликованные статьи правильно и полно отражают содержание диссертации. Представленные результаты опубликованы в научных журналах в виде 7-ми статей,

входящих в список ВАК и докладывались на российских и международных научных конференциях, что также свидетельствует о достоверности и важности полученных результатов.

Считаю, что диссертационная работа *«Взаимодействие молекул лекарственных препаратов с модельными липидными мембранами по данным двойного электрон-электронного резонанса спиновых меток»* отвечает критериям п.9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года (в действующей редакции), а ее автор, Кашник Анна Станиславовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Официальный оппонент:

Зарипов Руслан Булатович

кандидат физико-математических наук,

специальность 01.04.11. - "Физика магнитных явлений"

Старший научный сотрудник лаборатории спиновой химии и спиновой физики
Казанский физико-технический институт им. Е.К. Завойского – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки
«Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»»,

420029, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Сибирский тракт 10/7

Тел. 8(843)2720503,

Электронная почта: rb.zaripov@knc.ru

Я, Зарипов Руслан Булатович, согласен на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

Подпись _____



Дата _____

04.04.2025г

Подпись Р.Б. Зарипова заверяю.

Главный ученый секретарь ФИЦ КазНЦ РАН.

К.Х.Н.



/ С.А. Зиганшина/