

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 23.04.2025, № 6

О присуждении Кашник Анне Станиславовне, гражданке Российской Федерации, учёной степени кандидата физико-математических наук.

Диссертация *«Взаимодействие молекул лекарственных препаратов с модельными липидными мембранами по данным двойного электрон-электронного резонанса спиновых меток»* в виде рукописи по специальности 1.3.17 – «химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества» принята к защите 21 февраля 2025 г., протокол № 3, 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, *Кашник Анна Станиславовна*, 1997 года рождения, на момент защиты диссертации работает в должности младшего научного сотрудника ИХКГ СО РАН. В 2024 году соискатель окончила аспирантуру ИХКГ СО РАН. С 2019 года Кашник А.С. работает в ИХКГ СО РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории химии и физики свободных радикалов ИХКГ СО РАН.

Научный руководитель – доктор физико-математических наук, профессор *Дзюба Сергей Андреевич*, заведующий лаборатории химии и

физики свободных радикалов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН), г. Новосибирск..

*Официальные оппоненты:*

1. Доктор химических наук, старший научный сотрудник **Володин Александр Михайлович**, ведущий научный сотрудник отдела материаловедения и функциональных материалов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук» (ИК СО РАН), г. Новосибирск;;
2. Кандидат физико-математических наук **Зарипов Руслан Булатович**, старший научный сотрудник лаборатории спиновой физики и спиновой химии Казанского физико-технического института им. Е.К. Завойского - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (ФИЦ КазНЦ РАН), г. Казань; дали **положительные отзывы** на диссертацию.

*Ведущая организация*, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт «Международный томографический центр» Сибирского отделения Российской академии наук (МТЦ СО РАН), г. Новосибирск, в своём **положительном заключении**, подписанном доктором физико-математических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории ЭПР спектроскопии МТЦ СО РАН **Вебером Сергеем Леонидовичем**, утверждённом директором МТЦ СО РАН, доктором физико-математических наук, профессором РАН **Фединым Матвеем Владимировичем**, указала, что данная диссертационная работа является цельным законченным исследованием, содержит достоверные новые

результаты, по своей новизне, актуальности, практической и теоретической значимости соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук, а ее автор, А.С. Кашник, заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических 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) Ярким результатом работы является экспериментальное наблюдение переориентации подкластеров стеариновых кислот, индуцированной добавлением хальципорина в липидных бислой в очень малых концентрациях (соотношение пептида к липиду, при котором проявляется эффект, составляет П/Л  $\sim 1:10000$ ). При этом, в работе Сыряминой В.Н. с соавторами (V. N. Syryamina, N. E. Sannikova, M. De Zotti, M. Gobbo, F. Formaggio, S. A. Dzuba, Tylopeptin B peptide antibiotic in lipid membranes at low concentrations: Self-assembling, mutual repulsion and localization // *Biochim. Biophys. Acta. Biomembr.* – 2021. – V. 1863, No. 9. – P. 183585) аналогичный эффект на схожем пептиде тилопептин В наблюдался при концентрациях П/Л  $\sim 1:1000$ , что в 10 раз больше, чем в настоящей работе. Можно ли как-то объяснить полученные различия в требуемых концентрациях исходя из структурных особенностей хальципорина и тилопептина?

2) На временных зависимостях сигнала спада ДЭЭР при различном содержании хальципорина в бислое POPC (например, рисунок 40, рисунок 8П) можно заметить, что угол наклона кривой отличается на начальных временах спада (до 50 нс) и далее. Связанно ли это с какими-то инструментальными особенностями эксперимента? Или наблюдаемая

разница в наклонах кривой отражает свойства исследуемого объекта и может быть интерпретирована как признак неоднородного распределения по расстояниям спин-меченных стеариновых кислот в бислое POPC?

Соискатель имеет 9 научных работ (из них 8 по теме диссертации), опубликованных в международных и отечественных рецензируемых научных изданиях, входящих в список ВАК. Девять работ опубликованы в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумов.

*Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:*

- 1) **A. S. Smorygina**, E. A. Golysheva, S. A. Dzuba, Clustering of Stearic Acids in Model Phospholipid Membranes Revealed by Double Electron–Electron Resonance // *Langmuir*. – 2021. – V. 37, No. 47. – P. 13909-13916.
- 2) D. S. Baranov, **A. S. Smorygina**, S. A. Dzuba, Synthesis of Spin-Labeled Ibuprofen and Its Interaction with Lipid Membranes // *Molecules*. – 2022. – V. 27, No. 13. – P. 4127.
- 3) **A. S. Kashnik**, D. S. Baranov, S. A. Dzuba, Ibuprofen in a Lipid Bilayer: Nanoscale Spatial Arrangement // *Membranes*. – 2022. – V. 12, No. 11. – P. 1077.
- 4) **A. S. Kashnik**, V. N. Syryamina, B. Biondi, C. Peggion, F. Formaggio, S. A. Dzuba, DEER/PELDOR Study of the Effect of Extremely Low Concentrations of the Antimicrobial Peptide Chalciporin A on the Membrane Lipid Organization // *Appl. Magn. Reson.* – 2023. – V. 54. – P. 1-14.
- 5) **A. S. Kashnik**, O. Y. Selyutina, D. S. Baranov, N. E. Polyakov, S. A. Dzuba, Localization of the ibuprofen molecule in model lipid membranes revealed by spin-label-enhanced NMR relaxation // *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* – 2023. – V. 1865. – P. 184215.
- 6) D. S. Baranov, **A. S. Kashnik**, A. N. Atnyukova, S. A. Dzuba, Spin-Labeled Diclofenac: Synthesis and Interaction with Lipid Membranes // *Molecules*. – 2023. – V. 28, No. 16. – P. 5991.

7) **A. S. Kashnik**, D. S. Baranov, S. A. Dzuba, Spatial Arrangement of the Drug Ibuprofen in a Model Membrane in the Presence of Lipid Rafts // *J. Phys. Chem. B* – 2024. – V. 128, No. 15. – P. 3652-3661.

8) **A. S. Kashnik**, A. N. Atnyukova, D. S. Baranov, S. A. Dzuba, DEER Study of Spatial Arrangement of Spin-Labeled Diclofenac in Lipid Bilayers of Different Composition // *Appl. Magn. Reson.* – 2024. – V. 55. – P. 1145-1157.

На автореферат диссертации поступило 5 отзывов. Все отзывы положительные, все содержат замечания. Отзывы поступили от:

- доктора химических наук **Чумаковой Натальи Анатольевны**, главного научного сотрудника ФИЦ ХФ РАН;
- доктора физико-математических наук, доцента **Ереминой Рушаны Михайловны**, заведующей лабораторией радиоспектроскопии диэлектриков КФТИ ОСП ФИЦ КазНЦ РАН;
- кандидата физико-математических наук, доцента **Стася Дмитрия Владимировича**, старшего научного сотрудника лаборатории быстропротекающих процессов ИХКГ СО РАН;
- доктора физико-математических наук, члена-корреспондента РАН **Суровцева Николая Владимировича**, главного научного сотрудника лаборатории спектроскопии конденсированных сред ИАиЭ СО РАН;
- доктора физико-математических наук **Надолинного Владимира Акимовича**, главного научного сотрудника лаборатории физико-химических методов исследования газовых сред ИНХ СО РАН;

В отзывах имеются следующие вопросы и замечания: (1) «в тексте отсутствует объяснение сложного характера зависимостей, представленных на рисунке 5» и (2) «плохое качество рисунка 2 затрудняет восприятие важной информации о пространственном распределении бислоев DOPC/DPPC и POPC» (**Чумакова Н.А.**), (3) «на рисунке 1 (А, Б, В, Г)

представлены спады сигналов ДЭЭР в бислое, однако на самом рисунке обозначения А, Б, В, Г не поставлены» (*Еремина Р.М.*); (4) «в автореферате не нашлось указаний о температуре, при которой проводятся измерения. Приходится ли, как общепринято в двойном резонансе, работать при комнатной температуре, или мембраны позволяют приблизиться к более физиологичным условиям?» и (5) «очень красивая модель «шахматной шкатулки» описана чисто качественно. Можно ли из экспериментальных данных попытаться получить какие-то более количественные ее характеристики, например, аналогичные размеру области когерентного рассеяния и ширины распределения по нему в дифракционных экспериментах, и попытаться понять их связь со свойствами мембраны из соображений типа скейлинговых, работающих в гидродинамике» (*Стась Д.В.*); (6) «к недостаткам автореферата следует отнести низкое разрешение и шрифт некоторых рисунков, а также отсутствие информации о температурах, при которых получены обсуждаемые экспериментальные данные» (*Суровцев Н.В.*); (7) «каждая из четырех глав, посвященных конкретным исследованиям, начинается с подробного изложения приготовления образцов для исследования. Но из краткого изложения второй главы и последующих глав неясно происхождение модельной биологической мембраны и спин-меченых соединений. Не понятно из текста автореферата, модельная биологическая мембрана и спин-меченые соединения покупные или синтезированы автором» (*Надолинный В.А.*).

В положительных отзывах оппонентов имеются следующие замечания и вопросы:

**Володин А.М.:**

- Основной вывод о месте локализации спин-меченых молекул ибупрофена и диклофенака (Глава 4) сделан на основе различий в амплитуде сигнала ESEEM по сравнению с тестовыми образцами. Имело бы смысл обозначить возможный экспериментальный разброс в

определении этого параметра и наличие факта его воспроизводимости в различных экспериментах.

- Имело бы смысл более подробно разъяснить взаимосвязь полученных при 200 К в главе 6 результатов (на основе анализа данных ДЭЭР) о появлении в исследуемых системах сверхрешеток с возможным существованием при физиологических температурах так называемых липидных рафтов.

### ***Заринов Р.Б.***

- При оперировании таким понятием как «взаимное пространственное распределение» хотелось бы, чтобы автор точнее пояснил, что он под этим подразумевает.
- На стр. 31 не совсем понятно, вокруг чего вращается переменное магнитное поле  $B_1$  с частотой  $\nu_1$ .
- На стр. 31 автор указывает, что взаимодействие переменного магнитного поля с магнитным моментом тем больше, чем частота  $\nu_1$  ближе к  $\nu_0$ , что в свою очередь является неверным утверждением.
- На стр. 33 в формуле 12 допущена ошибка вместо  $\cos^2\theta$  указано  $\cos^2\varphi$ .
- На стр. 35-36 указано, что микроволновый резонатор предназначен для создания микроволнового магнитного поля, что является неверным утверждением.
- На ряде рисунков по оси ординат используются непривычные единицы измерения, так для стационарных спектров ЭПР амплитуда сигнала указана в  $\text{мТл}^{-2}$ , а амплитуда Фурье-преобразования в  $\text{МГц}^{-1}$  (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.
- 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.

- Опечатки на стр. 44 в индексах  $pV$  от  $p\bar{v}$  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  $T$ .
- На стр. 84 перепутаны описания к рисункам 49А и 49Б.
- На стр. 103 некорректно отмечено, что «На этом же Рисунке приведены результаты моделирования спектров СВ ЭПР с учетом значения  $\sigma_{local}...$ ». Обычно под результатом моделирования спектра подразумевается представление самого спектра, автор же имеет ввиду параметры, полученные при моделировании.
- На стр. 21 в предложении «Циклооксигеназа является связанным с мембраной энзимом, поэтому чтобы проявить свою терапевтическую активность...» опечатка – пропущена запятая перед союзом **чтобы**.
- На стр. 31 указано, что ядро азота имеет спин  $I = 1$ . Это верно, но только для изотопа  $^{14}\text{N}$ , для изотопа  $^{15}\text{N}$  спин ядра равен  $1/2$ .
- На стр. 33 в формулах 11 и 12 лишние скобки.
- На стр. 39 неудачное выражение «... поле спектрометра X-диапазона ЭПР...», на стр. 52 некорректное выражение «...величина уменьшения мощности составляла 25 дБ...», правильно – «ослабление».
- На стр. 32 в тексте проекция ядерного спина обозначается через  $I$ , а на рисунке 16 обозначено через  $J$ .
- На стр. 40 неудачное выражение «...сверхтонкий тензор может быть выражен в виде...», правильно все-таки «тензор сверхтонкого взаимодействия»
- По тексту некоторые обозначения трансформируются, так, например магнетон Бора обозначается и как  $\beta$  и как  $\mu_B$  (например стр. 44, стр. 47). Также в тексте встречаются названия СВ ЭПР и стационарный ЭПР. Хотелось бы, чтобы автор придерживался единого формата.

- На стр. 51 опечатка в написании аминокислотной последовательности вместо Ala указано Ala5.
- 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.

Во всех отзывах отдельно отмечается, что указанные замечания не снижают научной и практической значимости диссертационной работы. Все отзывы заканчиваются выводом, что диссертационная работа Кашник А.С. **полностью соответствует** требованиям, которые ВАК предъявляет к кандидатским диссертациям, а её автор – Кашник А.С. – заслуживает присуждения учёной степени кандидата физико-математических 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 спектроскопии магнитного резонанса, 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:**

Методом ДЭЭР получена информация о кластеризации спин-меченых молекул стеариновых кислот в модельных липидных мембранах: формировании кластеров и их структуре, взаимном пространственном распределении молекул в кластерах. Предложена модель кластеризации по типу «шахматной шкатулки» с попеременным чередованием кластеров в двух противоположных слоях бислоя.

Методом ДЭЭР получена информация о кластеризации спин-меченых молекул НПВП ибупрофена и диклофенака в модельных липидных мембранах. Здесь также оказалась применимой модель «шахматной шкатулки» с попеременным чередованием кластеров в двух противоположных слоях бислоя.

Методом ДЭЭР показано, что пептид-антибиотик хальципорин в липидной мембране POPC индуцирует латеральную перегруппировку встроенных в нее спин-меченых стеариновых кислот. Причем такая перегруппировка происходит начиная со сверхмалых концентраций пептида ( $\sim 0,01$  мол %, или  $1/10000$ ). Предположено, что такое перераспределение свободных жирных кислот и липидов может быть одним из возможных механизмов разрушающего действия пептида-антибиотика хальципорина на мембрану бактерий.

Методами ESEEM и усиления парамагнитной релаксации в ЯМР установлено, что спин-меченый ибупрофен в отсутствие холестерина локализуется в гидрофобной части модельной мембраны. Причем его локализация зависит от концентрации и липидного состава. Добавление холестерина к модельной мембране POPC приводит к смещению спин-меченого ибупрофена из центра бислоя в положения, более близкие к его поверхности. Спин-меченый диклофенак в такой мембране локализуется около пятого положения ацильной цепи липида.

Методом ДЭЭР установлено, что в модельной системе DOPC/DPPC/холестерин при содержании холестерина, для которого предполагается формирование липидных рафтов, спин-меченый ибупрофен и диклофенак образуют квазирегулярные наноструктуры с параметром «сверхрешетки» порядка 3,0 нм. Образование квазирегулярных структур можно объяснить захватом ибупрофена или диклофенака липидными рафтами. С одной стороны, этот факт является дополнительным свидетельством в пользу существования липидных рафтов, с другой – показывает наличие их внутренней наноструктуры.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что** информация о наноразмерном пространственном распределении и локализации лекарственных препаратов позволит развить имеющиеся представления об их молекулярных механизмах действия и функциональных свойствах. Результаты исследования липидных рафтов позволят развить имеющиеся представления о латеральной сегрегации в мембранах.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики заключается** в том, что полученные данные могут быть использованы для дальнейшего изучения антимикробного действия пептидов и внедрения их в клиническую практику в дополнение к обычным антибиотикам, к которым у части бактерий может присутствовать резистентность. Информация, полученная в рамках исследования взаимодействия НПВП с мембранами, в будущем может способствовать развитию методов повышения биосовместимости лекарств и снижению их побочных эффектов.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:** достоверность результатов, представленных в диссертационной работе, основывается на использовании современных экспериментальных подходов, согласованности данных, полученных разными методами, их воспроизводимости, критическом анализе ошибок измерения и соответствии с имеющимися данными других исследований о взаимодействии лекарств с мембранами. Значимость работы признана мировым научным сообществом, что подтверждается публикациями в рецензируемых профильных международных журналах, входящих в списки индексируемых базами данных Web of Science, Scopus и РИНЦ.

**Личный вклад соискателя состоит** в постановке целей, задач, а также планировании экспериментов совместно с научным руководителем. Соискателем был проведен анализ существующих исследований, посвященных молекулярным механизмам взаимодействия лекарственных

препаратов с модельными мембранами. Приготовление образцов и непосредственно исследовательская часть работы, а также математическая обработка полученных экспериментальных данных проводились лично диссертантом. Часть необходимого программного обеспечения для преобразования данных было реализовано автором самостоятельно. Обсуждение полученных результатов и написание статей осуществлялось соискателем совместно с коллективом соавторов.

Диссертация выполнена на высоком научном уровне и представляет собой законченное исследование с решением актуальных научных задач и содержательными, фундаментальными и практически важными результатами. Материалы диссертации соответствуют требованиям специальности 1.3.17 «химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества» (п.1 «экспериментальные методы исследования химической структуры и динамики химических превращений», п. 6 «строение, структура и реакционная способность интермедиатов химических реакций»). Соискатель Кашник А.С. успешно ответила на все задаваемые ей вопросы присутствующими на заседании, на замечания, приведенные в отзыве ведущей организации и отзывах на автореферат. Соискатель дал четкие аргументированные ответы по научным вопросам и согласилась со всеми техническими замечаниями и пожеланиями.

На заседании 23 апреля 2025 г. диссертационный совет постановил: за решение научной задачи по развитию методов изучения молекулярных и супрамолекулярных взаимодействий лекарственных препаратов в составе модельных липидных мембран, присудить **Кашник Анне Станиславовне** ученую степень *кандидата физико-математических наук*.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 12 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании и голосовании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение

ученой степени – 19, против присуждения ученой степени – 0,  
недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета,

д.х.н., доцент

Онищук Андрей Александрович

Ученый секретарь диссертационного совета,

к.х.н.

Поздняков Иван Павлович



25.04.2025