

## Отзыв официального оппонента

о диссертационной работе Магсумова Тимура Ильнуровича  
«Подавление гидрофобного эффекта органическими соразтворителями»,  
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по  
специальности 1.4.4. «Физическая химия»

Рецензируемая диссертационная работа Магсумова Т. И. посвящена изучению влияния гидрофобных эффектов на термодинамику растворения малополярных соединений и устойчивость трехмерной структуры белков в смешанных водно-органических растворителях.

На сегодняшний день достоверно установлено, что явления гидрофобной гидратации и гидрофобного взаимодействия, объединяемые понятием гидрофобные эффекты, играют определяющую роль как в растворимости малополярных соединений и устойчивости трехмерной структуры белков, так и в протекании большого числа других важнейших биологических и технологически процессов. Можно отметить также, что взгляды на молекулярные механизмы гидрофобных эффектов изменяются и требуют дальнейшего исследования как экспериментальными, так и расчетными методами. Учитывая сказанное, тема диссертационной работы Магсумова Т. И. несомненно является **актуальной**.

Следует отметить, что рассмотренный автором процесс подавления гидрофобного эффекта является составной частью более общей проблемы - целенаправленного управления гидрофобными эффектами. В этом смысле работа может получить дальнейшее плодотворное развитие.

Кроме того, автором не отмечено, но широко известно противовирусное и противобактериальное действие исследованного в работе лизоцима. В настоящее время пандемии коронавируса этот факт **добавляет актуальности** проведенным Магсумовым Т.И. исследованиям.

К достоинствам работы следует отнести логичность ее построения и оптимальное сочетание примененных методов. Сначала, используя экспериментальные и расчетные методы, установлены закономерности подавления гидрофобного эффекта в водно-органических смесях на примере процессов сольватации неполярных соединений, характеризующихся универсальными взаимодействиями с растворителем. Полученные результаты использованы для интерпретации снижения термической стабильности белков при добавках к воде органических растворителей. Такой подход обеспечивает **достоверность** полученных в диссертационной работе результатов и **обоснованность** научных положений.

В работе получено большое количество новых экспериментальных данных, позволивших дать полную термодинамическую характеристику ( $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$ ) растворения и сольватации бензола, толуола и н-октана в смесях воды с различными органическими соразтворителями (ацетонитрил, ацетон, тетрагидрофуран, 1,4-диоксан, диметилсульфоксид, N-метилформамид), оказывающими денатурирующее действие на белки. Анализ полученных экспериментальных данных, в совокупности с результатами молекулярно-динамического моделирования процесса сольватации убедительно показали, что добавление даже малых количеств органического растворителя приводит к подавлению гидрофобного эффекта. Важный вклад при этом принадлежит изменениям в процессе образования полости при добавлении органического растворителя.

Проведенный анализ температур денатурации лизоцима в воде и водно-органических смесях, определенных методом дифференциальной сканирующей калориметрии, позволил Магсумову Т.И. для количественной характеристики растворителей по их денатурирующей способности впервые использовать величину изменения температуры денатурации белка. Была обнаружена также взаимосвязь между денатурирующей способностью водно-органических смесей и их сольватационными свойствами по отношению к малополярным соединениям.

Используя экспериментальные и расчетные методы исследования автору удалось показать, что при добавке органического растворителя к воде не только снижается термическая стабильность лизоцима, но и изменяется механизм термически индуцированного разрушения его нативной структуры.

Все сказанное выше определяет **научную новизну** диссертационной работы Магсумова Т.И. и свидетельствует о **теоретической значимости** проведенного исследования для химии растворов биологически активных соединений.

**Практическое значение** рецензируемой работы определяется большим количеством полученных экспериментальных данных, которые имеют как самостоятельное значение, так и могут быть использованы для параметризации расчетных моделей растворов. Предложенная в работе шкала денатурирующей способности растворителей может найти применение для выбора наиболее подходящего растворителя при проведении ферментативных реакций.

Перейдем к рассмотрению диссертационной работы. Она построена традиционным образом, состоит из введения, 5 глав, перечня основных результатов и выводов, списка литературы из 277 источников. Текст

диссертации занимает 172 страницы. Он дополнен 17-ю таблицами и 50-ю рисунками.

В главе 1 литературного обзора описано развитие представлений о гидрофобном эффекте. Целенаправленно отмечено проявление гидрофобного эффекта в термодинамических характеристиках растворения и гидратации малополярных веществ, полученных как экспериментальными, так и расчетными методами исследования растворов. В контексте дальнейшего обсуждения результатов подробно проанализирован модельный подход, представляющий процесс гидратации и сольватации молекул состоящий из стадий образования полости, соответствующей размеру и форме молекулы растворенного вещества, и переноса растворенного вещества в эту полость с включением взаимодействия растворенное вещество-растворитель. Сделан вывод, что термодинамические функции образования полости в основном отражают закономерности гидратации и сольватации неполярных соединений в неводных растворителях и изменения гидрофобного эффекта. Кратко охарактеризованы возможные структуры белков в водном растворе, их взаимосвязь с составом молекул и способностью к гидрофобным и гидрофильным взаимодействиям.

В главе 2 литературного обзора проанализировано состояние экспериментальных и теоретических исследований термодинамики растворов неполярных и полярных молекул в смесях воды с органическими растворителями с целью выяснения влияния органических добавок к воде на проявление гидрофобного эффекта. Особое внимание при этом уделено энтальпийным характеристикам. Рассмотрены результаты экспериментальных и расчетных (МД) методов изучения влияния органических добавок на денатурацию белков и механизм этого процесса.

Литературный обзор (45 с. из 172 с.) не перегружен, содержит необходимые сведения для выбора методов исследования и подходов к обсуждению результатов, написан хорошим, образным языком.

Имеются замечания по литературному обзору, касающиеся его оформления:

- на рис. 1а (с. 13) хорошо бы указать названия алканов;
- не указано что означает  $r_3$  в выражении (2.4) на с. 31;
- вызывают неудобства для чтения и понимания разные положения воды и органического компонента на оси состава смешанных растворителей (с. 29 рис. 2.4 – вода справа, с. 42 рис. 2.12 – вода слева, и далее)

В экспериментальной части (разделы 3.1 – 3.9) описаны объекты исследования и методики контроля их чистоты. Подробно охарактеризованы

экспериментальные и расчетные методы исследований, использованные в диссертационной работе. Приведены методики расчета параметров и поправок к ним.

По экспериментальной части есть следующие замечания:

- указано (с. 56), что определялось содержание воды в органических растворителях, но количественные данные не приведены;

- приведенная на с. 59 точность дозирования вещества микрошприцом (0.01 мкл) явно завышена. Для шприцов Hamilton объемом 100 или 250 мкл ([www.hamiltonsyringes.ru/files/opisanie\\_tipa\\_shpricev\\_hamilton.pdf](http://www.hamiltonsyringes.ru/files/opisanie_tipa_shpricev_hamilton.pdf)), имеющих относительную погрешность 1 % это вряд ли возможно. При объеме дозирования 6 - 10 мкл точность дозирования не превысит 0.06 мкл;

- при описании методики выполнения калориметрического эксперимента, а также других экспериментальных методик (растворимости, КД), не приведены результаты тестирования приборов по стандартным веществам. Это не позволяет оценить систематические погрешности экспериментов;

- при расчете энтальпий сольватации должны использоваться энтальпии растворения при бесконечном разбавлении (уравнение 3.9 с. 60). Не указано каким образом они определялись.

Раздел "Экспериментальная часть", несмотря на сделанные замечания, свидетельствует о высоком уровне проведенных экспериментальных исследований с использованием прецизионных приборов, высокой квалификации автора, что свидетельствует о **достоверности и надежности** полученных данных.

Обсуждению полученных экспериментальных и расчетных результатов посвящены главы 4 и 5. Обнаруженные в работе (разделы 4.1 и 4.2) особенности термодинамических свойств водных растворов алифатических и ароматических углеводов, (энтальпия и энтропия гидратации, соотношение между энтальпией и энергией Гиббса) убедительно подтверждают проявление гидрофобного эффекта. В то же время характерное изменение указанных свойств при добавках органических соразтворителей свидетельствует о подавлении гидрофобного эффекта в исследованных водно-органических смесях. Анализ корреляций энтальпия - энергия Гиббса для водно-органических смесей позволил показать, что органические растворители подавляют гидрофобный эффект с различной эффективностью.

Для раскрытия механизма подавления гидрофобного эффекта и проявления избирательной сольватации молекул в смешанных растворителях автором привлекается метод компьютерного моделирования (раздел 4.3).

Выполнены расчеты термодинамических характеристик образования полости в смешанных растворителях, отражающие изменение сольватационных свойств растворителей при варьировании их состава. В результате было показано, что основной причиной возникновения гидрофобных и, в общем случае, сольвофобных эффектов является низкое значение энтропии образования полости в ассоциированных растворителях, особенно в воде.

Выявленные закономерности сольватации неполярных алифатических и ароматических углеводородов в смешанных растворителях и интерпретация гидрофобного эффекта с использованием расчетной методики позволили автору в 5 главе диссертационной работы глубоко проанализировать полученные данные по термической денатурации лизоцима в водно-органических смесях и сделать обоснованные выводы. Тем самым подтвердив концепцию об общих чертах разворачивания белков и растворения гидрофобных соединений. Следует отметить попытки автора использовать современные методы компьютерного моделирования для предсказания пространственной конфигурации белковых молекул и процессов ее трансформации (раздел 5.6). Однако моделирование процесса денатурации лизоцима показало, что современные численные методы могут использоваться только для качественной оценки процесса. По мнению самого диссертанта: «Можно только сказать, когда изменения станут заметными, используя различные допущения и критические значения структурных параметров».

По главам обсуждения результатов у оппонента имеются следующие замечания и вопросы:

- какая цель преследовалась автором при использовании различных концентраций растворов: мольные доли, молярность, мг/мл?

- как рассчитывались стандартные погрешности коэффициентов активности (табл. 4.1) и энтальпий растворения (табл. 4.2) углеводородов в смешанных растворителях?

- почему погрешности энтальпий растворения октана и толуола в смеси вода – TGF (табл. 4.2 с. 80) резко возрастают (в 4-10 раз) при содержании воды в смеси 0.85-0.95 мол.д. ?

- на чем основано предположение (с. 106), что величина  $m$  (т.е. концентрационная зависимость энергии Гиббса денатурации  $\Delta_d G$ ) не зависит от температуры?

- для иллюстрации различий температуры денатурации лизоцима, определенной методами ДСК и КД (с. 115 рис. 5.5, с. 117 рис. 5.6) и их зависимости от природы органического соразтворителя целесообразно было использовать одинаковые концентрации соразтворителя в смеси с водой;

- какой прогноз автор может дать об изменении сольватирующей способности смесей воды с растворителями, оказывающими стабилизирующее действие на нативную структуру белков;

- в качестве основной причины разрушения нативной структуры белков в водно-органических смесях указывается подавление гидрофобного эффекта, то есть опосредованное влияние органического соразтворителя на гидрофобное взаимодействие между неполярными фрагментами молекул белков. Может ли способствовать денатурации прямое взаимодействие исследованных органических соразтворителей с пептидными связями в белках?

Высказанные замечания и вопросы, конечно, затрудняют чтение и понимание диссертации, однако не влияют на качество полученных результатов и обоснованность выводов, не снижают научной и практической ценности диссертации.

Основные результаты работы показывают, что все поставленные в работе задачи выполнены, выводы являются достоверными и научно обоснованными.

Автореферат, 17 научных трудов, включая 9 статей в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для опубликования основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, в полной мере отражают содержание диссертации.

#### **Специальность, которой соответствует диссертация**

Диссертация Магсумова Т.И. является законченным научным исследованием в области физической химии. Содержание диссертации соответствует областям исследования по специальности 1.4.4. Физическая химия (по паспорту специальности 02.00.04 - физическая химия):

п. 1 в части «расчет параметров строения молекул и пространственной веществ»;

- п. 2 в части «экспериментальное определение термодинамических свойств веществ, расчет термодинамических функций простых и сложных систем»;

- п. 4 в части «теория растворов, межмолекулярные и межчастичные взаимодействия»;

п. 10 в части «связь реакционной способности реагентов с их строением и осуществления химической реакции».

#### **Заключение**

Диссертационная работа Магсумова Т. И. является законченным научным исследованием, пополняющим наши знания в области химии и

термодинамики растворов неполярных соединений и белков. По своей актуальности, новизне и значимости полученных результатов и их публикации в рецензируемых изданиях соответствует критериям, установленным для кандидатских диссертаций пунктами 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), а её автор Магсумова Т. И. заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук.

**Официальный оппонент**

Ведущий научный сотрудник

Федерального государственного

бюджетного учреждения науки

Института химии растворов

им. Г.А. Крестова

Российской академии наук,

доктор химических наук по

специальности 02.00.04 – физическая

химия, старший научный сотрудник.

Россия, 153045, г. Иваново,

ул. Академическая, д. 1

e-mail: bat21dv@yandex.ru

\_\_\_\_\_ Д. В. Батов