

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Диссертация Магсумова Тимур Ильнуровича «Подавление гидрофобного эффекта органическими соразтворителями» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия выполнена на кафедре физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (ФГАОУ ВО КФУ).

Магсумов Тимур Ильнурович в 2017 году окончил Казанский (Приволжский) федеральный университет по специальности "Фундаментальная и прикладная химия". С 2017 по 2021 Магсумов Т.И. обучался в очной аспирантуре ФГАОУ ВО КФУ по направлению подготовки 04.06.01 Химические науки. В период с 2017 по 2020 гг работал в должности младшего научного сотрудника, с 2020 года работает в должности ассистента в Химическом институте им. А.М. Бутлерова Казанского федерального университета.

Научный руководитель: доктор химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химических исследований отдела физической химии Химического института им. А. М. Бутлерова ФГАОУ ВО КФУ Седов Игорь Алексеевич.

Диссертационная работа обсуждалась на расширенном заседании кафедры физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова ФГАОУ ВО КФУ 3 декабря 2021 года (протокол № 5). На заседании присутствовали 23 чел., из них 6 докторов, 10 кандидатов химических наук.

При обсуждении диссертации соискателю были заданы следующие вопросы:

д.х.н., проф. Зиганшин М.А.:

Термическую стабильность лизоцима в водно-органических смесях вы впервые изучили или ранее были аналогичные работы?

д.х.н., проф. Зиганшин М.А.:

Можно ли сформулировать, что главный механизм денатурации – это растворение неполярной части белка в неполярном или полярном растворителе? Процесс денатурации – это последовательный или кооперативный процесс?

д.х.н., проф. Горбачук В.В.:

У вас есть максимум для энтальпии растворения алканов при добавлении органического растворителя. Как это связано с понижением или подавлением гидрофобного эффекта и понижением энергии образования полости при добавлении органического растворителя?

д.х.н., проф. Горбачук В.В.:

Было ли ранее изучено изменение вторичной и третичной структуры при денатурации? На основе каких данных вы делаете выводы о механизме денатурации? Может ли быть связана дестабилизация белка разрывом водородных связей между аминокислотными остатками, а не подавлением гидрофобного эффекта?

к.х.н., н.с. Ягофаров М.И.: Что вы понимаете под сольватацией? Что такое теплоемкость сольватации? Обычно говорят о положительной избыточной теплоемкости.

к.х.н., доцент Сироткин В.А.: Где ваша исходная кривая по денатурации, термограмма? Если анализировать ваши данные, литературные данные по сольватации, скажите, диметилформамид к какому растворителю ближе всего по сольватным свойствам?

асс. Болматенков Д.Н.: Вы пытались анализировать связь между энтальпиями растворения бензола и избыточными энтальпиями смешения растворителей?

к.х.н., с.н.с. Герасимов А.В.: Можно ли полученный ряд растворителей по денатурирующей способности с лизоцима перенести на другие белки?

На поставленные вопросы соискатель дал исчерпывающие ответы.

С рецензией на работу выступила к.х.н., доцент Казымова М.А.:

Рецензия положительная.

Диссертационная работа «Подавление гидрофобного эффекта органическими соразтворителями» представленная на соискание ученой степени кандидата

химических наук посвящена изучению процессов сольватации соединений – традиционной теме исследований, проводимых на кафедре физической химии КФУ.

Целью исследований Магсумова Тимура Ильнуровича являлось установление закономерностей гидрофобного эффекта в водно-органических смесях в зависимости от природы и концентрации органического соразтворителя. При этом основное внимание было сделано на получение новых экспериментальных данных по термической стабильности белков в водно-органических смесях различного состава и установлении связи между термической стабильностью белков в водно-органических смесях, сольватационными свойствами этих смесей и подавлением гидрофобного эффекта. В самой постановке задачи исследования и сформулирована актуальность исследования. Изучение любых факторов, влияющих на процесс денатурацию белка, в том числе и влияние растворителей на этот процесс, безусловно, является **актуальным**.

Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения полученных результатов, раздела основными результатами и выводами и списка цитируемой литературы из 273 источников. Работа изложена на 171 странице. Содержит 17 таблиц и 52 рисунка. Большое количество графиков, построенных из полученных экспериментальных результатов, делает работу наглядной и легко воспринимаемой, а также дает возможность сопоставить полученные результаты с обоснованием научных выводов автора.

Литературный обзор состоит из двух частей. В одной обсуждаются общие положения гидрофобного эффекта и его проявления. А во второй части рассматриваются результаты, полученные ранее в этой области исследования, а именно, процессы сольватации малополярных соединений в органических средах, в том числе сам процесс сольватации, теоретические аспекты процесса сольватации с использованием молекулярного моделирования, вопросы стабильности белков в водно-органических смесях. Обзор составляет 35 страниц.

В экспериментальной части (с.55—70) изложены основные методы исследования. При этом представлены разнообразные физические методы; автор не ограничивается одним или двумя методами, что делает **доказательными** все результаты и выводы диссертационной работы. Каждый метод исследований детально прописан в экспериментальной части. Это и определение энергий Гиббса растворения и сольватации методом газохроматографического анализа равновесного пара, и определение энтальпий растворения и сольватации калориметрическими методами, проведенные расчеты методом молекулярной динамики, и определение температуры и энтальпии денатурации лизоцима методом дифференциальной сканирующей калориметрии, и изучение термической стабильности вторичной и третичной структуры лизоцима методом спектроскопии

кругового дихроизма, определение термической стабильности лизоцима методом флуоресцентной спектроскопии, методом флуоресцентной спектроскопии определение кинетических параметров денатурации белка. Проведены расчеты с использованием программы GROMACS 5.1 процесса разрушения нативной структуры лизоцима в смеси вода-диметилсульфоксид.

Глава «Обсуждение результатов» тоже подразделена на два больших раздела: «Сольватация неполярных соединений в водно-органических средах» и «Влияние органического растворителя на процесс денатурации белков» (с.71-134). Каждый подраздел заканчивается выводом, сделанный автором в ходе исследования. Например, было установлено, что из-за того, что в водно-органических смесях энтропии сольватации мало изменяются или даже растут с увеличением концентрации воды, можно говорить о подавлении гидрофобного эффекта. Далее приводятся основные выводы по результатам исследования подавления гидрофобного эффекта в растворах малополярных низкомолекулярных соединений водно-органических смесях, (с.95).

Основные **результаты и выводы** представлены в диссертации в полном объеме, исходя из накопленного экспериментального материала и его анализа (с.140). Все они обоснованы и надежны. В диссертационной работе Магсумова Тимура Ильнуровича **научная новизна** заключается в следующем. Впервые получены неизвестные ранее значения энергий Гиббса и энтальпий сольватации ряда малополярных соединений в смесях воды с органическими растворителями. Показано, что добавление к воде органического растворителя приводит к ослаблению гидрофобного эффекта. Показана взаимосвязь между денатурирующей способностью органических растворителей с их сольватационными свойствами. Изучена термическая стабильность белка лизоцима в смеси вода-органический растворитель и показана возможность изменения самого механизма разрушения его нативной структуры.

По результатам научных исследований основные результаты диссертационной работы опубликованы в 9 статьях в рецензируемых научных журналах, индексируемых в WoS и Scopus, и в тезисах докладов (15).

Теоретическая значимость научных исследований Магсумова Тимура Ильнуровича состоит в фундаментальном исследовании процесса сольватации, а именно, подавление гидрофобного эффекта органическими растворителями, **практическая** – в возможности использования значений денатурирующей способности растворителей в выборе их при изучении различных химических процессов.

Стиль изложения диссертационной работы логичен, представлен огромный экспериментальный материал, который автор, Магсумов Тимур Ильнурович, смог представить в сжатой, емкой форме, но доступной и понятной для прочтения. Замечаний по оформлению работы, объему представленного материала нет.

По актуальности научных исследований, научной новизне, практической и теоретической значимости, объему эксперимента, достоверности результатов и выводов диссертационная работа Магсумова Тимура Ильнуровича на тему «Подавление гидрофобного эффекта органическими соразтворителями» может быть представлена в диссертационный совет для публичной защиты на соискание ученой степени кандидата химических наук.

С отзывом на работу и автореферат выступил к.х.н., доцент Новиков В.Б.:

Диссертационная работа Магсумова Т.И. посвящена изучению гидрофобного эффекта в смешанных водно-органических растворителях. Тема исследования в основном и определяет его **актуальность**, поскольку работ, в которых изучаются различные физико-химические процессы в водно-органических смесях, едва ли не больше, чем в индивидуальных растворителях. И интерпретируются результаты этих работ зачастую в терминах гидрофобности органического компонента.

В **первой части литературного обзора** кратко приводится описание основных положений о гидрофобном эффекте: его термодинамическое описание, теоретическая интерпретация с точки зрения теории образования полости и примеры явлений, в которых он проявляется. Во **второй части** литературного обзора уделяется внимание результатам работ, посвященных процессам сольватации малополярных соединений и денатурации белков в водно-органических смесях.

Результаты работы изложены в двух главах. В **первой части** вклад гидрофобного эффекта в водно-органических смесях анализируется на основе экспериментально измеренных энтальпий и свободных энергий сольватации. Экспериментальные данные дополняются расчетами методами молекулярной динамики, анализируется вклад образования полости в термодинамические параметры сольватации.

Вторая часть работы посвящена изучению денатурации лизоцима в водно-органических смесях: термической стабильности белка, кинетике и механизму денатурации. Результаты полученные в этой части интересны сами по себе и анализируются с точки зрения результатов первой части. Для изучения денатурации лизоцима авторами также проводилось молекулярно-динамическое моделирование.

Научная новизна диссертационной работы связана, в частности, с тем, что термодинамические данные для сольватации алканов в смесях с мольной долей воды выше 0,4 были получены впервые. Эти экспериментальные данные ценны сами по себе, а также послужили лучшему пониманию того, как меняется вклад гидрофобного эффекта в зависимости от состава водно-органической смеси.

Изучена термическая стабильность модельного белка в различных водно-органических смесях. Впервые показана связь между термической стабильностью белка в водно-органических смесях и сольватационными свойствами этих смесей по отношению к малополярным соединениям.

Выводы являются логичными, достоверными и обоснованными, достаточно полно и точно отражают содержание работы. Широкий набор применяемых методов свидетельствует о надежности полученных результатов и высокой квалификации автора работы. Текст диссертационной работы написан хорошим научным языком, построение ее логично и последовательно.

Основное содержание работы изложено в 9 статьях, опубликованных в международных рецензируемых журналах, входящих в базы данных Scopus и Web of Science. Результаты исследования были представлены на различных международных и всероссийских конференциях.

По диссертационной работе имеются следующие **замечания, комментарии и рекомендации**:

1. Нужно подкорректировать в выводах пункт 2, потому что «небольшие количества» и «резкое изменение» это не количественные характеристики, а скорее эмоциональные. Желательно конкретизировать вывод.

2. В нескольких местах автореферата и диссертационной работы формулировки тяжеловаты, их стоит переформулировать.

3. Необходимо немного расширить экспериментальную часть, посвященную описанию калориметрии растворения. Объект в данной работе совсем не обычный. Вероятно, алканы в смесях с большим содержанием воды растворяются очень плохо. Для калориметрии растворения алканов можно указать не только длительность базовой линии, но и длительность растворения (обычно низкая растворимость сопровождается плохой кинетикой растворения). Поскольку авторы другим методом определяли также и свободную энергию сольватации, можно было бы указать рассчитанную растворимость и сопоставить её с возможностями дозирования в титрационном калориметре. В этом разделе указывается расчет по формуле поправки на испарение алкана в свободный объем калориметрической ячейки. Хотелось бы видеть кроме формулы также величину этой поправки по отношению к измеряемому эффекту.

4. Энтальпии сольватации в воде взяты литературные, но ссылка приведена на работу-компиляцию. Правильнее ссылаться на оригинальные работы.

Перечисленные замечания не влияют на положительную оценку работы. В диссертационной работе Магсумова Тимура Ильнуровича получены достоверные и значимые результаты на основе экспериментальных и теоретических методов, обладающие новизной, научной и практической ценностью.

Представленная диссертационная работа Магсумова Тимура Ильнуровича соответствует требованию «Положения о присуждении учёных степеней» (Постановление Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.) и может быть представлена в диссертационный совет по специальности 1.4.4. Физическая химия.

По итогам обсуждения принято следующее **Заключение:**

Диссертационная работа Магсумова Тимура Ильнуровича на тему «Подавление гидрофобного эффекта органическими соразтворителями», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия, является целостным и законченным исследованием, написана автором самостоятельно, содержит оригинальные научные результаты, полученные результаты и их анализ имеют существенное фундаментальное и практическое значение.

Работа актуальна и обладает научной новизной.

Диссертационная работа посвящена изучению актуальной проблеме современной физической химии: исследованию подавления гидрофобного эффекта, который играет значительную роль в самых различных процессах, при добавлении органических растворителей. Водно-органические смеси используются в процессах разделения и экстракции как в лабораторном, так и в промышленном масштабе, что объясняет необходимость детального изучения их сольватационных свойств. Кроме того, использование водно-органических смесей позволяет изменять селективность ферментов, а также проводить ферментативные реакции с плохо растворимыми в воде субстратами. Однако при этом следует учитывать снижение стабильности и каталитической активности белка. Поэтому исследование влияния различных растворителей на процессы денатурации белков также является актуальной задачей.

В работе измерены ранее неизвестные величины термодинамических функций растворения и сольватации неполярных соединений в смесях воды с различными органическими соразтворителями в широком диапазоне составов смесей. Показано, что добавление даже небольших количеств органического растворителя приводит к подавлению гидрофобного эффекта.

На основе рассчитанных значений термодинамических функций образования полости в водно-органических смесях показано, что подавление гидрофобного эффекта обусловлено изменением термодинамики процесса образования полости при добавлении органического растворителя.

Изучена термическая стабильность модельного белка лизоцима в смесях воды с различными органическими растворителями при однородных условиях проведения эксперимента. Впервые получен ряд растворителей по их денатурирующей способности, мерой которой выступает величина изменения температуры денатурации белка.

Показана связь между денатурирующей способностью водно-органических смесей и их сольватационными свойствами по отношению к малополярным соединениям.

Показано, что в присутствии различных органических растворителей не только снижается термическая стабильность белка, но и изменяется путь термического разрушения его нативной структуры. Во многих случаях при этом разрушение элементов вторичной структуры продолжается после исчезновения нативной третичной структуры, в то время как в чистой воде эти процессы происходят синхронно.

Практическая значимость и ценность научной работы соискателя.

Полученные значения коэффициентов активности и энтальпий растворения, а также термодинамические функции образования полости могут быть использованы для параметризации расчетных моделей растворимости.

Полученные данные о денатурирующей способности растворителей могут быть использованы для выбора наиболее подходящего растворителя при проведении ферментативных реакций.

Ценность научной работы заключается в том, что впервые получен ряд растворителей по их денатурирующей способности. Фундаментальное значение имеют выводы о связи между подавлением гидрофобного эффекта различными растворителями, их влиянием на термодинамику сольватации низкомолекулярных малополярных соединений и процесс денатурации белков в водно-органических смесях. Научную ценность представляет предложенная методология для оценки времени разрушения нативной структуры белка в молекулярно-динамическом моделировании.

Достоверность результатов подтверждается использованием широкого набора экспериментальных и теоретических методов исследования, их воспроизводимостью, а также согласованностью полученных экспериментальных данных и закономерностей с описанными ранее в литературе.

Личное участие автора заключается в получении всех экспериментальных данных, представленных в работе; проведении анализа литературы,

математической обработки экспериментальных и литературных данных; расчетов методом молекулярной динамики; анализа и обобщении полученных результатов.

Основное содержание работы изложено в следующих работах:

1. **T. Magsumov**, I. Sedov. Thermodynamics of cavity formation in different solvents: Enthalpy, entropy, and the solvophobic effects // Journal of Molecular Liquids, 2021, V. 331, P. 115738.
2. Sedov, **T. Magsumov**. The Gibbs free energy of cavity formation in a diverse set of solvents // The Journal of Chemical Physics, 2020, V. 153, № 13, P. 134501.
3. **T. Magsumov**, L. Ziyang, I. Sedov. Comparative study of the protein denaturing ability of different organic cosolvents // International Journal of Biological Macromolecules, 2020, V. 160, P. 880-888.
4. **T. Magsumov**, A. Fatkhutdinova, T. Mukhametzyanov. I. Sedov. The Effect of Dimethyl Sulfoxide on the Lysozyme Unfolding Kinetics, Thermodynamics, and Mechanism // Biomolecules, 2019, Vol. 9, № 10, P. 547.
5. I.A. Sedov, **T.I. Magsumov**, B.N. Solomonov. Solvation of hydrocarbons in aqueous-organic mixtures // The Journal of Chemical Thermodynamics, 2016, Vol. 96, P. 153-160.
6. I.A. Sedov, **T.I. Magsumov**, M.A. Stolov, B.N. Solomonov. Standard molar Gibbs free energy and enthalpy of solvation of low polar solutes in formamide derivatives at 298K // Thermochemica Acta, 2016, Vol. 623. P. 9-14.
7. I.A. Sedov, **T.I. Magsumov**, B.N. Solomonov. Thermodynamic functions of solvation of benzene in various binary aqueous-organic solvents // Journal of Molecular Liquids, 2016, Vol. 224, P. 1205-1209.
8. I.A. Sedov, **T.I. Magsumov**. Molecular dynamics study of unfolding of lysozyme in water and its mixtures with dimethyl sulfoxide // Journal of Molecular Graphics and Modelling, 2017, Vol. 76, P. 466-474.
9. I.A. Sedov, **T.I. Magsumov**. Thermodynamic Functions of Solvation of Hydrocarbons, Noble Gases, and Hard Spheres in Tetrahydrofuran-Water Mixtures. J. Phys. Chem. B., 2015, V. 119, P. 8773-8780.

Результаты работы также изложены в 15 тезисах докладов на международных и российских научных конференциях.

В диссертации соискатель ссылается на собственные опубликованные работы, а также работы других ученых. В тексте диссертации отсутствуют материалы без ссылки на автора или источник заимствования.

Специальность, которой соответствует диссертация.

Диссертационная работа Магсумова Т.И. «Подавление гидрофобного эффекта органическими соразтворителями» соответствует пунктам 2 «Экспериментальное определение термодинамических свойств веществ, расчет термодинамических функций простых и сложных систем, в том числе на основе методов статистической термодинамики, изучение термодинамики фазовых превращений и фазовых переходов», 4 «Теория растворов, межмолекулярные и межчастичные взаимодействия» и 7 «Макрокинетика, механизмы сложных

химических процессов, физико-химическая гидродинамика, растворение и кристаллизация» паспорта специальности 02.00.04 – Физическая химия (1.4.4. Физическая химия).

Диссертация Магсумова Т.И. удовлетворяет всем требованиям «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденной Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. и может быть представлена в диссертационный совет по специальности 1.4.4. Физическая химия.

Заключение принято на расширенном заседании кафедры физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского федерального университета (протокол № 5 от 3 декабря 2021 года). Присутствовали: 23 человека. Итоги голосования: «За» - 22, «Против» - нет, «Воздержавшихся» - 1.

Заведующий кафедрой физической химии,
профессор, д.х.н.

Б.Н. Соломонов

Секретарь кафедры физической химии,
инженер

А.Р. Хабибуллина