

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.2.392.06, СОЗДАННОГО НА  
БАЗЕ ФГБОУ ВО «САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»,  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело \_\_\_\_\_

Решение диссертационного совета от 23.11.2023 № 89/23

О присуждении Захарову Александру Алексеевичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата физико-математических наук.

Диссертация «Спектральные проявления межмолекулярного взаимодействия лекарственных препаратов, биомолекул и наночастиц» по специальности 1.3.6. – Оптика принята к защите 28 июня 2023 года (протокол заседания 82/23) диссертационным советом 24.2.392.06, созданным на базе ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83. Совет 24.2.392.06 создан приказом Минобрнауки России № 362/нк от 19.03.2020.

Соискатель Захаров Александр Алексеевич РФ, 23.10.1994 года рождения, в 2018 г. окончил СГТУ имени Гагарина Ю.А. и получил степень магистра по специальности «Информатика и вычислительная техника». С 2018 г. по 2022 г. являлся аспирантом СГТУ имени Гагарина Ю.А.

Диссертация выполнена на кафедре «Информационная безопасность автоматизированных систем» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.».

**Научный руководитель:** Пластун Инна Львовна, доктор физико-математических наук, доцент, профессор кафедры «Информационная безопасность автоматизированных систем» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.».

**Официальные оппоненты,**

Горохов Александр Викторович, доктор физико-математических наук, профессор, профессор кафедры общей и теоретической физики федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева», г. Самара;

Дворецкий Константин Николаевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры медбиофизики имени профессора В.Д. Зернова федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Саратов,

дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва. В положительном отзыве ведущей организации, подписанным Доленко Татьяной Альдефонсовной, кандидатом физико-математических наук, ведущим научным сотрудником кафедры квантовой электроники физического факультета, и Пановым Владимиром Ивановичем, доктором физико-математических наук, профессором, заведующим кафедрой квантовой электроники физического факультета, и утверждённым Федяниным Андреем Анатольевичем, доктором физико-математических наук, профессором, проректором – начальником

управления научной политики, указано, что диссертация Захарова Александра Алексеевича «Спектральные проявления межмолекулярного взаимодействия лекарственных препаратов, биомолекул и наночастиц» отвечает всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.6. – Оптика.

Соискатель имеет 27 опубликованных печатных работ, включая 6 статей в изданиях из перечня ВАК РФ и изданиях, входящих в базу цитирования SCOPUS. Диссертационное исследование было поддержано грантом РФФИ, проект №20-33-90250.

#### **Наиболее значимые публикации автора по теме диссертации:**

1. Пластун И. Л., **Захаров А.А.**, Наумов А. А., Жулидин П.А., Филин П.Д. Спектральные проявления молекулярных механизмов образования наночастиц сульфида серебра методом бактериального синтеза //Оптика и спектроскопия (Optics and spectroscopy). 2021. Т. 129. Вып. 6. С.717-726. DOI: 0.21883/OS.2021.06.50982.1k-21.

Работа посвящена исследованию спектральных проявлений межмолекулярного взаимодействия, основанного на водородном связывании компонент, участвующих в процессе бактериального синтеза наночастиц сульфида серебра с помощью бактерий *Bacillus subtilis* 168. Была выявлена существенная роль метиллизина в процессе водородного связывания флагеллина с солями рабочего раствора в ходе образования наночастиц сульфида серебра.

2. Пластун И.Л., Наумов А.А., **Захаров А.А.** Механизмы межмолекулярного взаимодействия митоксантрона с полиэлектролитными капсулами адресной доставки //Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Физика. 2021. Т. 21. Вып. 4. С. 329-342. DOI: 10.18500/1817-3020-2021-21-4-329-342

В работе исследуется взаимодействие лекарственного препарата митоксантрон со слоями полиэлектролитных капсул адресной доставки при помощи методов молекулярного моделирования на основе теории функционала плотности, включая анализ рассчитанных ИК спектров и параметров водородных связей. После анализа рассчитанных структур и ИК спектров полученных молекулярных комплексов обнаружено, что важную роль в доставке лекарства играет полиаргинин, благодаря сильному взаимодействию с митоксантроном, что позволяет удерживать его внутри капсулы.

3. Пластун И. Л., **Захаров А. А.**, Бабков Л. М., Яковлев Р. Ю. Проявления полиморфизма и влияние водного окружения на физико-химические свойства модифицированной янтарной кислоты //Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2022. Т. 22. Вып. 3. С. 229-243. DOI: 10.18500/1817-3020-2022-22-3-229-243

В работе методами ИК спектроскопии и молекулярного моделирования были обнаружены существенные изменения физико-химических свойств модифицированной янтарной кислоты, полученной путём перекристаллизации. Выявлено, что после процедуры перекристаллизации в составе янтарной кислоты остаются единичные молекулы воды, способствующие более сильному водородному связыванию, что приводит к значительному повышению растворимости и биодоступности янтарной кислоты и проявляется в существенных изменениях ИК спектра.

4. Пластун И. Л., **Захаров А.А.**, Наумов А. А. Спектральные проявления механизмов межмолекулярного взаимодействия модифицированных малеимидом полиэлектролитных капсул, используемых в таргетной терапии //Оптика и спектроскопия (Optics and spectroscopy). 2023. Т.131. №6. С.117-128. DOI: 10.21883/OS.2023.06.55904.117-23

В работе методами молекулярного моделирования с последующим анализом рассчитанных ИК спектров и параметров образующихся водородных связей были выявлены спектральные проявления механизмов комплексообразования малеимида с азотсодержащими аминокислотами на основе водородного связывания. Выявлена роль малеимида как вещества, усиливающего межмолекулярное взаимодействие аминокислот. Это позволяет сделать вывод о том, что модификация малеимидом капсул адресной доставки, строящихся на основе белковых структур, может способствовать увеличению их терапевтической активности.

Содержащиеся в диссертации сведения об опубликованных соискателем учёной степени работах достоверны.

На автореферат диссертации поступило **9 отзывов** от:

1. Батаева Вадима Альбертовича, кандидата химических наук, ведущего научного сотрудника кафедры физической химии химического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва. Замечания:

1) Для расчета систем, образованных за счет межмолекулярных взаимодействий, автор использовал базисные наборы АО, не содержащие диффузных функций, и не учитывал дисперсионные взаимодействия, например, в форме поправок Гримме.

2) В большинстве исследуемых систем автор не учитывал влияние среды — водного окружения. Среди компонентов этих систем есть и ионные (например, тиосульфат натрия), которые не могут быть корректно представлены в виде молекул, как это получилось в работе.

3) Не ясно, по каким критериям автор определял образование водородной связи и каким образом рассчитывал её энергию. Интересно, насколько представленные результаты сходны с оценками по корреляционной формуле Эспинозы.

2. Беловой Натальи Витальевны, доктора химических наук, доцента, профессора кафедры физики, декана факультета неорганической химии и технологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ивановский государственный химико-технологический университет», г. Иваново. Замечания:

1) В качестве одной из задач исследования ставится оценка «степени взаимодействия» лекарственного препарата со слоями электролитных молекул. Какие количественные характеристики понимает автор под термином «степень взаимодействия»?

2) Автором указывается, что «достоверность методов исследования подтверждается качественным совпадением расчетных и экспериментальных данных для рассматриваемых молекулярных комплексов». Однако, в автореферате приводятся экспериментальные ИК-спектры только для модифицированной янтарной кислоты. Проводились ли экспериментальные исследования ИК-спектров других молекулярных комплексов, изучаемых автором?

3) К сожалению, в рамках автореферата не описано, каким образом рассчитывались значения энергии водородных связей  $\Delta E$ . Что понимается под этой величиной?

4) Следует отметить, что выбранный автором теоретический уровень для квантово-химического изучения межмолекулярных, в основном, водородных, связей, не совсем удачен. Описание подобных эффектов требует учета дальнедействующих (нековалентных) взаимодействий путем введения соответствующих поправок в функционал, а также использования базисов с диффузными функциями.

5) Более корректным доказательством существования водородных связей в исследованных комплексах, а также описание свойств этих связей в молекулярных комплексах представляется изучение топологии электронной плотности в критических точках распределения в рамках теории Бейдера «Атомы в молекулах» или анализа натуральных орбиталей (NBO-анализа).

3. Васильевой Ирины Александровны, доктора физико-математических наук, профессора кафедры общей и экспериментальной физики Института физики, технологии и информационных систем ФГБОУ ВО «Московский педагогический государственный университет», г. Москва.

Замечание: К недостатку автореферата можно отнести отсутствие сравнения рассчитанных и полученных экспериментально ИК-спектров (например, см. рис.7).

4. Горина Дмитрия Александровича, доктора химических наук, профессора, профессора центра фотоники и квантовых материалов автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковский институт науки и технологий» (Сколковский институт науки и технологий, Сколтех), г. Москва.

5. Докукиной Ирины Владимировны, кандидата физико-математических наук, доцента кафедры высшей математики, зав. лабораторией «Математическое моделирование физики живых систем» СарФТИ НИЯУ МИФИ (Саровский физико-технический институт – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ»), г. Саров.

6. Звягина Андрея Васильевича, доктора физико-математических наук, зам. директора Института молекулярной тераностики ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России» (Сеченовский Университет), г. Москва.

7. Ризниченко Галины Юрьевны, доктора физико-математических наук, профессора кафедры биофизики биологического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва.

8. Штырлина Валерия Григорьевича, кандидата химических наук, доцента кафедры неорганической химии, заведующего научно-исследовательской лабораторией координационных соединений Химического института им. А.М. Бутлерова ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань.

9. Яковлева Руслана Юрьевича, кандидата химических наук, заведующего лабораторией физико-химических и аналитических исследований, генерального директора ООО «Научный центр РТА», г. Москва.

Замечания:

1) Поскольку вещество малеимид используется для ковалентного биоконъюгирования с другими молекулами, то какова значимость его межмолекулярного взаимодействия с ними? Как автор видит механизм увеличения терапевтической эффективности за счет усиления водородных связей?

2) Можно ли оценить количество единичных молекул воды в расчетной структуре янтарной кислоты? Может ли используемая модель выявлять «фантомные» молекулы воды в кристаллической структуре янтарной кислоты, которые действительно находились в ней в замороженном виде, но затем были удалены сублимационным методом и тем самым получилась метастабильная форма янтарной кислоты, которая выше по энергии известных форм?

Все отзывы положительные. В отзывах отмечается актуальность темы исследования, новизна полученных результатов и их значимость для науки и практики. На замечания соискателем даны исчерпывающие ответы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается значительным опытом выполнения ими научно-исследовательских работ по тематике диссертации.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

1. Выявлена возможность достаточно сильного межмолекулярного взаимодействия между метиллизиним и солями рабочего раствора, используемыми для биосинтеза наночастиц сульфида серебра с помощью грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 168. Полученные результаты могут свидетельствовать о важной роли метиллизина в ходе образования наночастиц сульфида серебра методом бактериального синтеза.

2. Установлено, что митоксантрон и аргинин обладают высокой способностью к межмолекулярному взаимодействию за счёт образования большого количества водородных связей средней силы как через amino-, так и через карбоксильную группу. Это позволяет сделать предположение, что важную роль в доставке лекарств при помощи полиэлектролитных капсул играет именно полиаргинин.

3. Обнаружено, что малеимид способен усиливать водородное связывание между азотсодержащими аминокислотами, что было продемонстрировано на основе изменений рассчитанных ИК спектров и параметров водородных связей при переходе от двух- к трёхкомпонентным смесям.

4. Установлено, что после процедуры модификации, основанной на перекристаллизации, в составе янтарной кислоты остаются единичные молекулы воды, способствующие более сильному водородному связыванию, что отражается в изменениях ИК спектра и приводит к значительному повышению растворимости и биодоступности янтарной кислоты.

5. Полученные результаты могут быть полезны для дальнейшего развития как экспериментальных, так и теоретических исследований проявлений межмолекулярного взаимодействия на основе водородного связывания и его влияния на ИК спектры и физико-химические свойства образующихся мультикомпонентных смесей в различных прикладных задачах биофизики и фармакологии.

**Теоретическая и практическая значимость:**

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные результаты, основанные на анализе рассчитанных ИК спектров и молекулярных структур, представляют собой основу для описания механизмов межмолекулярного взаимодействия, лежащих в основе образования мультикомпонентных смесей, основанных на водородном связывании, лекарственных препаратов, биомолекул и наночастиц в ходе процессов адресной доставки лекарств и образования наночастиц методом бактериального синтеза.

Методами ИК спектроскопии и молекулярного моделирования были установлены причины изменения физико-химических свойств модифицированной янтарной кислоты в ходе процедуры перекристаллизации, что дало объяснение изменениям в экспериментально измеренных ИК спектрах.

Практическая значимость полученных соискателем результатов подтверждается тем, что была выявлена роль метиллизина в ходе процесса бактериального синтеза наночастиц сульфида серебра с помощью грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 168, дающая возможность совершенствования механизмов бактериального синтеза наночастиц. Обоснование механизмов адресной доставки противоопухолевых лекарственных препаратов при помощи полиэлектролитных капсул открывает перспективы усовершенствования механизмов таргетной терапии. Процедура модификации полиэлектролитной капсулы малеимидом способна привести к усилению взаимодействия оболочки капсулы и пораженной ткани.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила,** что достоверность представленных результатов обеспечена современными методами молекулярного моделирования на основе теории функционала плотности. Полученные

соискателем результаты согласуются с экспериментальными данными, они докладывались на семинарах и конференциях различного уровня, а также были опубликованы в ведущих научных изданиях.

**Личный вклад соискателя** состоит в том, что им были созданы все исходные модели рассматриваемых в работе молекул и комплексов, проводились все процедуры расчёта структур молекул и молекулярных комплексов и их колебательных спектров, осуществлялся анализ результатов расчётов.

Основные вопросы соискателю, заданные в ходе защиты диссертации:

1. Каким образом вычислялась энергия образующихся водородных связей?
2. Какое смысловое значение имеет приведение основного спектра, если исследуется только высокочастотная область от  $2500\text{ см}^{-1}$  до  $4000\text{ см}^{-1}$ ?
3. На основе каких принципов добавлялись молекулы воды при рассмотрении модифицированной янтарной кислоты в водном окружении?
4. Поясните, пожалуйста, термин «водородная связь средней силы». Чем определяется классификация силы связей и как можно отличить связь средней силы от сильной или слабой?
5. При какой температуре производился расчет ИК спектров и исследуемых молекулярных структур?
6. В ходе бактериального синтеза наночастиц сульфида серебра был использован чистый флагеллин или использовалась бактериальная культура, включающая различные белковые компоненты?
7. В чем разница между терминами «водородная связь» и «водородный мостик»?
8. Каким пунктам паспорта специальности 1.3.6 - Оптика соответствует проведенное диссертационное исследование?

Соискатель Захаров А.А. ответил на заданные вопросы и привел собственную аргументацию:

1. Расчёт энергии производился путем вычисления разницы между полной энергией комплекса и энергией отдельной молекулы, а также была использована эмпирическая формула Иогансена.

2. Для того, чтобы наглядно увидеть совпадение рассчитанных и экспериментальных результатов приводится весь спектр целиком.

3. С каждым новым вариантом для мономера янтарной кислоты добавлялось по одной молекуле воды, для димера, или фрагмента цепочечного ассоциата, - по две. Количество присоединяемых молекул воды определялось возможностями к присоединению атомов в молекулах мономера и димера (наличие донора и акцептора).

4. Оценка производилась в соответствии с классификацией, приведенной в монографии Сид Дж. В., Этвуд Дж. Л. «Супрамолекулярная химия», где на основе значений энергии, длины водородной связи, длины водородного мостика и частотного сдвига даются оценки степени силы водородной связи.

5. Кроме янтарной кислоты, все расчеты производились при температуре 25 градусов Цельсия. Это стандартная температура при расчётах в используемом программном комплексе Gaussian.

6. Особенностью бактериального синтеза наночастиц сульфида серебра на основе бактериальной культуры *Bacillus subtilis 168*, является то, что флагеллин является единственным белком, образующимся на наночастицах в процессе бактериального синтеза, поэтому наши исследования ограничились только этим белком.

7. Водородный мостик представляет собой двойную связь, одна из которых образуется на внутримолекулярном уровне (межатомные взаимодействия), а вторая – на уровне создания межмолекулярных комплексов, то есть между двумя разными молекулами, являясь как бы продолжением внутримолекулярной водородной связи.

