

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института химии растворов
им. Г.А. Крестова Российской академии наук
доктор химических наук, профессор

А.Г. ЗАХАРОВ
«17» мая 2016 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации – Федерального государственного бюджетного учреждения
науки Института химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук
на диссертационную работу

САЛАХУТДИНОВОЙ ОЛЬГИ АЛЕКСАНДРОВНЫ

*«Самоорганизация и свойства высокоразбавленных растворов производных
гликольурилы и бензойной кислоты: влияние температуры и строения веществ»,*
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.04 – физическая химия

Актуальность темы диссертационной работы **О.А. Салахутдиновой** определяется тем, что высокоразбавленные (до ультранизких содержаний) водные растворы биологически активных веществ (БАВ) представляют значительный интерес как с точки зрения фундаментальных исследований в области физикохимии растворов, так и в плане их практического приложения в различных высокотехнологичных отраслях. Особое значение на современном этапе развития исследовательских подходов такого рода придается изучению высокоразбавленных водных растворов БАВ фармакологического или иного медицинского назначения в условиях, моделирующих естественную среду обитания живых организмов. Вместе с тем физико-химические основы протекающих в ультраразбавленных растворах процессов остаются пока малоизученными. Значительный вклад в развитие указанного направления физикохимии растворов внесли работы, выполненные научным коллективом под руководством академика А.И. Коновалова в ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН. В частности, обнаружено, что растворы многих БАВ в области высоких (до 10^{-20} М) разведений представляют собой самоорганизованные дисперсные системы, состоящие из наноразмерных (до 400 нм) молекулярных ансамблей или наноассоциатов. При этом процесс формирования наноассоциатов сопряжен с немонотонными (по концентрационной шкале) изменениями зависимостей ряда физико-химических характеристик высокоразбавленных растворов, коррелирующими с некоторыми их биологическими свойствами. Заслуживающим внимания является также то что образование наноассоциатов происходит только при выдерживании растворов с концентрацией 10^{-6} М и ниже в естественных условиях – при наличии внешних низкочастотных электромагнитных полей (ЭМП). В *гипоэлектромагнитных* условиях (при использовании экранирующего пермаллового контейнера) в области концентраций ниже т.н. «пороговой» свойства водных растворов БАВ соответствуют свойствам растворителя.

Однако на пути дальнейшего обоснования природы эффектов в высокоразбавленных растворах БАВ остаются неизученными вопросы, связанные с образованием наноассоциатов в области физиологически значимых температур, с влиянием стереохимического строения молекул растворенного БАВ на процессы самоорганизации в водной среде, а также с установлением физически обоснованной взаимосвязи между зависящими от концентрации БАВ параметрами наноассоциатов и свойствами растворов в области высоких разбавлений. Решение этих задач необходимо прежде всего для прогнозирования возможности появления немонотонно-профильных зависимостей «концентрация – биоэффект» при воздействии высокоразбавленных растворов на биосистему. В представленной диссертации указанные проблемы наглядно отражены и рассмотрены пути их решения на основе комплексного подхода, построенного на экспериментальном исследовании как процессов самоорганизации, так и физико-химических свойств высокоразбавленных растворов некоторых производных гликольурила и бензойной кислоты, выдержанных при различных температурах (25–45°C) в естественных и гипозлектромагнитных условиях. Кроме того, проведены систематизация полученных результатов на основе привлечения к анализу более широкого круга объектов исследования. Это позволяет прийти к заключению об актуальности темы диссертации О.А. Салахутдиновой, что нашло свое отражение в грантовой поддержке работы Президиумом РАН и Российским фондом фундаментальных исследований.

Диссертационная работа О.А. Салахутдиновой выполнена в лаборатории физико-химии супрамолекулярных систем ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН **в соответствии с научным направлением** «Научные основы создания новых материалов с заданными свойствами, в том числе высокоточных наноматериалов» (п. 45) **в рамках госбюджетной темы 2:** «Синтез и закономерности самоорганизации новых функционализированных макроциклов и амфифилов – супрамолекулярных тектонов и разработка стратегии их применения в современных нано- и биотехнологиях» (№ гос. регистрации 01201455264).

Диссертация изложена на 175 страницах, содержит 12 таблиц и 69 рисунков и, в соответствии с общепринятым построением, состоит из введения, трех глав (включающих в себя обзор литературы, экспериментальную часть и тематически разделенное обсуждение результатов), основных выводов, списка цитируемой литературы (из 231 наименования) и приложения, а также списка сокращений и условных обозначений.

Во введении обоснована актуальность работы, сформулированы ее конкретные задачи, проанализированы научная новизна и теоретическая и практическая значимости решаемых соискателем проблем, обоснована достоверность полученных результатов. **Основная цель исследования** определена как изучение влияния физиологически важных температур, гипозлектромагнитных условий, а также стереохимического строения структурных аналогов некоторых БАВ на свойства высокоразбавленных растворов и процессы их самоорганизации, установление взаимосвязи между параметрами наноассоциатов, физико-химическими и биологическими свойствами растворов исследованных веществ.

Первая глава диссертации (литературный обзор), занимающая в целом 53 страницы, тематически разделена на шесть логически связанных между собой разделов. В первых двух

разделах проведен всесторонний анализ существующих в литературе сведений о водных растворах как открытых неравновесных наногетерогенных системах, а также о моделях, описывающих структуру и свойства жидкой воды. Важное место уделено необходимости использования для водных растворов неаддитивного системного подхода, основанного на принципах самоорганизации сложной системы и ее устойчивости к внешним воздействиям. Кроме того, подчеркнута важная роль наногетерогенности жидкой воды (как совокупности когерентных доменов) в процессах самоорганизации. В третьем и четвертом разделах главы приводятся экспериментальные доказательства структурной наногетерогенности водных растворов и ее изменчивости под влиянием различных факторов внешнего воздействия, включая температуру. Отмечается, что наличие «интерфейсной» или поверхностной воды, а также структурных особенностей водной среды в интервале температур 35–40°C, являются основными причинами проявления аномальных свойств воды в биосистемах. В последних (пятом и шестом) разделах рассмотрены особенности и закономерности биологического действия высокоразбавленных растворов и с позиций самоорганизации дается обоснование имеющимся в литературе фактам немоного изменения их физико-химических свойств и биоактивности. Автор диссертации О.А. Салахутдинова при написании литературного обзора проявила глубокие познания в данной области исследований; обзор критичен по содержанию и представляет самостоятельный научный интерес.

Вторая глава (экспериментальная часть) вмещает в себя 17 страниц диссертации (а также приложение на 11 страницах) и содержит описание изучаемых соединений, методик приготовления и анализа их высокоразбавленных водных растворов, а также изложение используемых в работе физико-химических и биологических методов исследования. В качестве объектов исследования выбраны БАВ, условно образующие два ряда соединений, и поверхностно-активное вещество бромид цетилтриметиламмония (БЦТА). К первому ряду относятся мочевины и ее бициклические бис-аналоги – гликолурил с алкилзамещенными производными (мебикар, альбикар и бикарэт), а также с производными, содержащими фрагмент метионина. Второй ряд соединений образуют бензойная кислота и ее производные (салициловая, *n*-аминобензойная, ацетилсалициловая и *n*-аминосалициловая кислоты). Для изучения процессов самоорганизации в растворах применялись эффективные методы ДРС и ЭРС (динамического и электрофоретического рассеяния света), а также анализа траектории наночастиц (АТН). Из физико-химических характеристик, необходимых для построения совместных концентрационных зависимостей, измерялись удельная электропроводность (кондуктометрически) и рН растворов, а также использовались данные ЭПР (спиновых меток)- и УФ-спектроскопии. Следует отметить усилия диссертанта, направленные на освоение и совершенствование методик приготовления растворов (посредством кратных разбавлений) и понижения уровня внешних ЭМП (путем создания гипoeлектромагнитных условий в пермаллоевой камере), а также статистической обработки результатов измерений.

Заключительная третья глава в трех частях, состоящая из 57 страниц, посвящена подробному обсуждению полученных результатов. В первой ее части (раздел 3.1) показано, что при концентрациях ниже пороговой ($1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ М) в растворах мебикара, альбикара,

гликольурилов с метиониновыми (*S*)-Met и (*SR*)-Met фрагментами, 4-амино- и 2-гидроксибензойных кислот, выдержанных в естественных условиях, образуются наноассоциаты. Этому факту отвечают немонотонные по профилю зависимости физико-химических свойств растворов. При выдерживании в гипoeлектромагнитных условиях разбавленные растворы всех изученных в работе соединений по физико-химическим свойствам близки к таковым для водной среды. **Во второй части главы (раздел 3.2)** проанализировано влияние температуры на «эволюцию» процессов самоорганизации. Показано, что наноассоциаты в разбавленных водных растворах 4-аминобензойной кислоты (ПАБК) и БЦТА в интервале концентраций $1 \cdot 10^{-12} - 1 \cdot 10^{-3}$ М претерпевают структурные перестройки при температурах, близких к 30, 37 и 40°C. Данные изменения отражаются на немонотонных температурных зависимостях параметров доменов и наноассоциатов, а также удельной электропроводности исследованных растворов и времени вращательной корреляции зонда ТЕМПО, который характеризует микровязкость доменов и наноассоциатов. **В третьей части главы (раздел 3.3)** изучена взаимосвязь самоорганизации, физико-химических и биологических свойств высокоразбавленных растворов ПАБК, БЦТА и салициловой кислоты. С позиции процессов самоорганизации объяснены биоэффекты этих растворов, а также факт разнонаправленного (по сравнению с контрольными образцами растворов двух последних соединений) действия их, наблюдаемого выше и ниже пороговой концентрации, на рост бактерий *Bacillus subtilis* и скорость биохимического окисления загрязнителей микробиоценозом активного ила. Здесь необходимо подчеркнуть, что изложенные в целом в главе 3 экспериментальные результаты и выводы в целом следует расценивать как серьезное научное достижение диссертанта.

Приведенные в диссертационной работе экспериментальные данные получены О.А. Салахутдиновой лично или при непосредственном ее участии. Автор работы участвовала в обработке, анализе, описании результатов и их апробации на конференциях различного уровня, а также в подготовке публикаций по теме диссертации; ею обсуждены и обобщены результаты, а также сформулированы основные выводы диссертационной работы.

Новизна полученных О.А. Салахутдиновой результатов и выводов не вызывает сомнений. Автором работы впервые обнаружено, что гидрофобные свойства алкильных радикалов у атома азота молекулы гликольурила и гидрофильные свойства заместителей в ароматическом кольце молекулы бензойной кислоты могут быть причиной неординарного поведения эффектов самоорганизации разбавленных ниже $10^{-7} - 10^{-4}$ М растворов. В обоих случаях выявлены производные, растворы которых обладают способностью к образованию наноассоциатов и немонотонным изменениям свойств. Впервые продемонстрировано, что самоорганизация и свойства высокоразбавленных растворов существенным образом зависят от стереохимической природы энантимеров. Это выражается в способности гликольурила, содержащего метиониновые (*S*)-Met или (*SR*)-Met фрагменты к пространственно-временной самоорганизации, в то время как в растворах энантиомера с фрагментом (*R*)-Met указанная способность отсутствует. Впервые исследованы температурные зависимости параметров наноассоциатов, обуславливающих немонотонные изменения физико-химических свойств разбавленных растворов 4-аминобензойной кислоты и бромида цетилтриметиламмония (при

25-45°C). На основании установленной взаимосвязи между характеристиками растворов этих двух соединений, а также 2-гидроксibenзойной кислоты, и их биологическим действием в отношении роста бактерий и энергообмена микробиоценоза активного ила, влияющего на степень очистки сточных вод, впервые с позиции концепции самоорганизации дано объяснение исследованных биоэффектов до и после пороговой концентрации растворов.

Выводы и результаты, полученные в диссертации из анализа экспериментальных данных, обладают необходимыми элементами достоверности. Обоснованность такого утверждения подкреплена фактом применения в работе современных методов исследования с необходимым набором стандартизированного прецизионного и высокочувствительного оборудования, а также наличием взаимосогласованности результатов измерений.

Значимость диссертационной работы для науки и производства состоит в том, что полученные в ней результаты носят фундаментальный характер и являются важным вкладом в обоснование физико-химической природы действия высокоразбавленных растворов БАВ. Анализ немонокотных зависимостей «концентрация - биоэффект» необходим для разработки лекарственных средств нового поколения и создания экологически безопасных, ресурсо- и энергосберегающих технологий (в соответствии с Программой фундаментальных научных исследований Президиума РАН на 2013–2020 гг., пункты 44, 45, 46 и 48). Экспериментально установленная биоактивность разбавленных растворов регуляторов роста микроорганизмов (4-аминобензойная и салициловая кислоты, бромид цетилтриметиламмония) открывает новые перспективы их использования с расширением спектра биологического действия.

Сформулированные соискателем выводы могут быть использованы для решения научных и прикладных задач в ряде вузов и научно-исследовательских организаций: МГУ им. М.В. Ломоносова, СПбГУ, Казанские (Приволжский) федеральный и национальный исследовательский технологический университеты, ИБФ РАН, ИОХ РАН (г. Москва), ИХР РАН (г. Иваново).

Тема и содержание диссертации полностью соответствуют научной специальности (02.00.04 – физическая химия), по которой она представлена к защите.

Основные результаты научных исследований О.А. Салахутдиновой опубликованы в полном соответствии с требованиями, предусмотренных «Положением о присуждении ученых степеней»: они прошли успешную апробацию на четырех международных и трех всероссийских конференциях и изложены в общем в 17 публикациях, среди которых глава в монографии и шесть статей в журналах, входящих в Перечень ВАК РФ.

В диссертации отсутствуют заимствованные материалы без ссылок на их авторов и/или источники заимствования, а также результаты научно-исследовательских работ, выполненных соискателем ученой степени с соавторами без ссылок на последних.

Автореферат соответствует структуре диссертации и вместе с публикациями полно отражает ее содержание.

Замечания по работе:

1. Глава первая в диссертационной работе (с. 12-64) явно перегружена имеющейся в литературе информацией о свойствах и структуре воды и водных растворов с описанием

природы их наногетерогенности, включая результаты моделирования, тем более что при обсуждении полученных результатов соискателем фактически использованы лишь сведения об особенностях строения т.н. «интерфейсной» или EZ-воды. Кроме того, приведенные на страницах 82-86, 97-98 и 131-132 (глава 3) данные об изученных в работе соединениях (производных гликольурилы и бензойной кислоты) и особенностях поведения их водных растворов, по существу тоже являются частью литературного обзора. Можно понять желание соискателя дать наиболее полную информацию о целях и объектах исследования. Однако в данном случае следование принципу «чем больше, тем лучше» вряд ли способствует более осмысленному пониманию путей решения поставленных в работе задач.

2. Экспериментальная часть диссертации (глава 2, с. 65-81), напротив, изложена в весьма лаконичной форме, хотя этот раздел имеет едва ли не первостепенное значение, если исходить из выводов работы. Прежде всего возникает вопрос о том насколько соответствует чистота препаратов достижению сформулированных соискателем целей. Синтезированные в группе проф. А.Н. Кравченко (ИОХ РАН) образцы гликольурил-производных неоднократно использовались и в исследованиях сотрудников ИХР РАН (г. Иваново), на основании чего напрашивается вывод о необходимости дополнительной подготовки этих соединений путем перекристаллизации, поскольку они содержат не только химические, но и механические примеси. Известно, что данные ИК- и ¹H ЯМР-спектров не являются критерием чистоты соединений. Такую информацию можно получить только из результатов элементного или ВЭЖ-хроматографического анализа. Эти проблемы отчасти касаются и качества подготовки для опытов производных бензойной кислоты и БЦТА, которые имели весьма низкую квалификацию – «хч» или «чда». Недостаточно охарактеризована и бидистиллированная вода. В диссертации (с. 48) отмечается, что «небольшие изменения изотопного состава воды могут приводить к неожиданно большим эффектам при воздействии на живой организм». Однако изотопный состав воды не изучен, хотя, например, только содержание дейтерия в ней в волжском регионе может изменяться вдвое. Поэтому, кроме измерений электрической проводимости, необходимо было проконтролировать качество очистки воды по плотности (на соответствие ее воде SMOW) и ИК-спектроскопически (на содержание в ней изотопов).

3. Касательно техники экспериментов, обращают на себя внимание невысокая точность взвешивания (± 0.5 мг) в процессе приготовления растворов (с. 67) и высокие значения погрешностей измерения их характеристик методами ДРС (2-20%, с. 71), ЭРС (4-20%, с. 74), кондуктометрии (2-15%, с. 77), рН-метрии (5-12%, с. 77) и ЭПР-спиновых меток (15-20%, с. 78). При этом отмечено, что метод АТН «является абсолютным и не требует калибровки» (с. 74)? Указанные обстоятельства вызывают сомнения в достоверности полученных в работе результатов и сделанных на их основе выводов. Чтобы развеять эти сомнения, соискателю следовало бы привести в экспериментальной части (кроме анализа погрешностей измерений, с. 165-175) несколько протоколов опытов, показывающих, по крайней мере, на качественном уровне, надежность представленных на рисунках в главе 3 зависимостей и корреляций.

4. При обсуждении результатов исследования в главе 3 (с. 82-138) слабо отражены моменты, непосредственно связанные с природой взаимодействия в высокоразбавленных

водных растворах БАВ. Не очень понятно, за счет каких сил формируются наноассоциаты в растворах гликолькурилов и бензойной кислоты. Так, например, при интерпретации эффектов самоорганизации в водном растворе мебикара за основу взяты работа Хургина с сотр. [191], указывающая на «детерминанту» (доминирующее влияние) в структуре этого соединения фрагмента мочевины, а также предположение автора диссертации об определяющей роли алкильных групп гликолькурила в образовании ассоциатов (с. 85-91). При этом совсем не учитываются выводы сотрудников ИХР РАН (проф. В.К. Абросимов, с.н.с. Иванов и др.), опубликованные в двух десятках статей в научных журналах издательств Elsevier и Springer, о необходимости привлечения для такого анализа данных о возможности образования Н-связей вода – гликолькурил через метиновые «мостиковые» группы последнего. Смушает факт использования термина *корреляция* в случае обсуждения соискателем зависимостей на рис. 3.10 (с. 95) и 3.32 (с. 128), где коэффициенты корреляции аппроксимированных зависимостей находятся в пределах 0.66–0.85. С математической точки зрения о наличии корреляции формально можно говорить только при $r \geq 0.86$. Вызывает вопросы и подбор производных гликолькурила в качестве объектов исследования. Очевидно, что альбикар (2,6-диметил-4,8-диэтилгликолькурил) в форме рацемата не совсем подходит для этой роли из-за отсутствия данных о свойствах водных растворах его (S)- и (R)-энантиомеров. Более оправданным в этом смысле было бы использование ахирального мебикарэта (2,4-диметил-4,6-диэтилгликолькурила), являющегося своего рода *интермедиатом* для подобных ему по стереохимической природе мебикару и бикарэту (2,4,6,8-тетраэтилгликолькурилу). Синтез этого препарата уже давно успешно осуществляется известными соискателю сотрудниками группы проф. А.Н. Кравченко (ИОХ РАН).

5. Наконец, несмотря на то, что работа в целом хорошо оформлена и содержит мало орфографических и стилистических ошибок, в тексте иногда встречаются неточности и опечатки: «заканчивается к 500 часу (приблизительно 2 суток)» (с.34); «происходит в и EZ-воде» (с. 39); «диссипативныххструктур» (с. 45); «не смотря на» (с. 51); «цилиндрическом» (с. 88); «мочейны» (с. 112); в ссылке [3] (с. 141) не указан год издания; в ссылках [73-76] (с. 147) том журнала перепутан с его номером; ссылка [140] (с. 153) неоправданно разделена на пункты *a* и *b*, при этом в ссылке [140*b*] присутствует неполное название журнала; в ссылках [43] (с. 144), [49,53] (с. 145), [164] (с. 156) и [188] (с. 159) не указано, что данные издания относятся к серии «Проблемы химии растворов»; и некоторые другие.

Высказанные замечания носят в основном дискуссионный характер и не снижают ценности основных научных положений защищаемой диссертации. Полученные автором результаты и выводы являются весомым вкладом в развитие представлений о процессах самоорганизации в ультраразбавленных растворах биоактивных веществ в зависимости от стереохимических свойств последних и параметров внешнего воздействия на жидкие системы такого рода. Диссертация представляет собой законченное научное исследование, выполненное на достаточно высоком экспериментальном и теоретическом уровне. Работа написана хорошим и ясным для понимания языком, хорошо оформлена и содержит мало орфографических и стилистических ошибок.

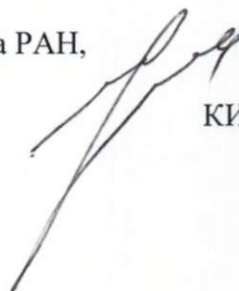
Таким образом, диссертация О.А. Салахутдиновой является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по изучению влияния температуры и строения веществ на самоорганизацию и свойства высокоразбавленных водных растворов производных гликольурилы и бензойной кислоты, имеющей существенное значение для развития физически обоснованных представлений о действии разбавленных до ультранизких концентраций растворов БАВ с различной химической и структурной организацией.

По своему объему, актуальности, новизне и значимости полученных результатов для науки и современных технологий диссертационная работа О.А. Салахутдиновой соответствует критериям, установленным пунктом 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, а ее автор заслуживает присуждения ей искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Отзыв рассмотрен и обсужден на заседании постоянно действующего научного семинара «Физическая химия растворов» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук (ИХР РАН), протокол № 05 от 17.05.2016 г.

Составители отзыва:

Заместитель директора по научной работе
Института химии растворов им. Г.А. Крестова РАН,
доктор химических наук по специальности
02.00.04-физическая химия, ст.н.с.



КИСЕЛЕВ Михаил Григорьевич

153045, г. Иваново, ул. Академическая, д. 1.
Тел.: +7(4932)336257;
E-mail: mgk@isc-ras.ru.

Старший научный сотрудник Лаборатории
растворов неэлектролитов и биологически активных
веществ Института химии растворов им. Г.А. Крестова РАН,
кандидат химических наук по специальности
02.00.04-физическая химия, ст.н.с.



ИВАНОВ Евгений Викторович

153045, г. Иваново, ул. Академическая, д. 1.
Тел.: +7(4932)351859;
E-mail: evi@isc-ras.ru.

