

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФИЗИКИ
Кафедра медицинской физики

На правах рукописи



Аганова Оксана Вартановна

**КОНФОРМАЦИИ И ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ
АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ (ПИРИДИНЫ И ТЕРПЕНОИДЫ) В
РАСТВОРЕ ПО ДАННЫМ ЯМР СПЕКТРОСКОПИИ**

03.01.02 – Биофизика

АВТОРЕФЕРАТ
на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Казань – 2019

Работа выполнена в Научной лаборатории ЯМР спектроскопии кафедры медицинской физики Института физики Казанского (Приволжского) федерального университета

Научный руководитель:

Ключков Владимир Васильевич,
доктор химических наук, профессор,
заведующий научной лабораторией ЯМР спектроскопии кафедры медицинской физики Института физики КФУ

Официальные оппоненты:

Волков Виталий Иванович,
доктор физико-математических наук,
профессор, заведующий лабораторией ядерного магнитного резонанса Института проблем химической физики РАН

Сибгатуллин Тимур Анварович
кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории гликобиологии растений Казанского института Биохимии и Биофизики ФИЦ КазНЦ РАН

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Защита состоится «4» марта 2020 года в 15.30 на заседании диссертационного совета КФУ 03.05 при Казанском (Приволжском) федеральном университете по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 16а, ауд. 305.

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки им. Н.И. Лобачевского при ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 35 и на сайте <https://kpfu.ru>

Автореферат разослан «__» 2020 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,

кандидат физико-математических наук



Д.С. Блохин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Исключительной высокий уровень современной экспериментальной базы физических методов исследования, огромные вычислительные возможности для расчета различных физических, биофизических и физико-химических моделей обусловили явное смещение исследований в область изучения медико-биологических систем, процессов в них происходящих, большей частью имеющих физическую природу, материалов и веществ, в том числе лекарственных препаратов. В ряду широко используемых методов (ядерно – физических, в том числе дифракционных, оптических и других) методы ЯМР (включая кинетические и динамические) занимают исключительно место, поскольку решают комплекс вопросов в триаде структура – свойства – функции молекул в растворе и твердой фазе. ЯМР уступает по чувствительности всем спектроскопическим методам, используемым в структурных исследованиях, но сегодня этот недостаток в значительной степени преодолен различными способами, и регистрация вещества на уровне нанограммов возможна на спектрометрах с рабочей частотой 800 МГц и более (на протонах). Многочисленные процессы внутри – и межмолекулярных перегруппировок (химического, позиционного обмена), протекающие в широком интервале констант скорости (10^{-1}с^{-1} – 10^5с^{-1}), комплексообразование, самодиффузия успешно идентифицируются и описываются в рамках различных методик динамического ЯМР. Помимо этого, по мнению ведущих специалистов в области ЯМР биомолекул, спектроскопия ЯМРочно занимает одно из лидирующих мест в арсенале биофизических методов, используемых для поиска и дизайна физиологически активных соединений – потенциальных лекарственных препаратов. Современные методы ЯМР, которых насчитывают в настоящее время уже несколько сотен [1], успешно применяются для изучения взаимодействия низкомолекулярных соединений с биомакромолекулами – мишениями действия лекарств. Описанные в обзоре [2] методики ЯМР привели к созданию лекарственных соединений, разрешенных к применению в медицинской практике или находящихся на заключительных стадиях клинических испытаний.

Работа посвящена структурно – динамическим исследованиям:

- пиридинов (новые производные четвертичных фосфониевых солей);
- серосодержащих монотерпеноидов;
- комплексов серосодержащих монотерпеноидов с молекулами – моделями биологических мембран.

Актуальность их исследования определена, прежде всего, тем обстоятельством, что данные вещества являются потенциальными лекарственными препаратами. Повышенное внимание обращено на производные солей четвертичного фосфония, так как их активно используют в медицинской химии. Наиболее удобным подходом при разработке лекарственных средств является химическая модификация соединений, обладающих биологической активностью и имеющих природное происхождение (которыми как раз и являются витамины и терпеновые соединения). Так, например, витамин В₆ (собирательное название производных 3-гидрокси-2-метилпиридинов) принимает участие в большом количестве реакций, протекающих в живом организме и обеспечивающих его нормальное функционирование; играет важную роль в метаболизме организма – поступив в организм, он превращается в кофермент пиридоксаль-6-фосфат; участвует в жировом обмене; является частью ферментов, которые производят декарбоксилирование и переаминирование аминокислот [3]. Что касается серосодержащих терпеноидов, то было показано, что монотерпены можно рассматривать как перспективные средства профилактики или лечения заболеваний сердечно – сосудистой системы [4], так как помимо полезных свойств (например, противогрибковых, антимикробных, противовоспалительных [5]), они являются соединениями с низкой токсичностью и без мутагенных и генотоксических эффектов.

При создании новых лекарственных средств, которые должны иметь определенные заранее известные свойства, важно знать пространственную структуру изучаемых объектов,

динамику внутри- и межмолекулярных превращений, активационные и термодинамические параметры соединений в растворе [6]. Эти задачи успешно решаются методами ЯМР. В частности, с его помощью возможно исследование внутри - и межмолекулярной динамики, установление трехмерной структуры (конформаций) стереонежестких соединений медико - биологического назначения, определение термодинамических параметров, характеризующих конформационные переходы

Целью диссертационной работы являлось установление конформаций и определение термодинамических параметров, характеризующих конформационные превращения в новых производных четвертичных фосфониевых солей на основе пиридина и строения молекулярных комплексов терпеноиды – модели клеточной мембраны. Для ее достижения выполнялись следующие **задачи**:

1. Установление основных конформаций производных фосфониевых солей в растворе в температурном диапазоне от 203К до 323К методами одно - и двумерной спектроскопии ЯМР.

2. Определение термодинамических параметров, характеризующих конформационное равновесие (разность свободных энергий ΔG_0) и переходы между конформерами (свободная энергия активации ΔG^\ddagger) в производных фосфониевых солей методом динамического ЯМР.

3. Исследование комплексообразования серосодержащих терпеноидов с мицеллами на основе ПАВ и установление пространственного строения молекулярных комплексов терпеноиды – модели клеточной мембраны в растворе методами одно- и двумерной спектроскопии ЯМР.

Объектами исследования являлись ранее не исследованные производные четвертичных фосфониевых солей на основе пиридина: соединение I – 5,6 – Бис (метилентрифенилфосфоний) – 2,8 – диметил – 4Н – [1,3] диоксино[4,5 – с] пиридин дихлорид, соединение II – 5,6 – Бис (метилентрифенилфосфоний) – 2,2,8 – триметил – 4Н – [1,3] диоксино[4,5 – с] пиридин дихлорид, соединение III – 5,6-Бис [трифенилфосфоний(метил)] – 2 – (трет – бутил) – 8 – метил – 4Н [1,3]диоксино [4,5 – с] пиридин дихлорид, а также терпеновые соединения: камfenовый сульфон 2 – (((3,3 – диметилбицикло [2.2.1] гептан-2 – ил) метил) сульфонил) этан – 1– ол (соединение IV) и тиотерпеноиды борнановой серии: 2 – (((S) – (1,7,7 – триметилбицикло – [2.2.1]гепт – 2 – ил)тио)уксусная кислота (соединение V), 2 – (((S) – 1,7,7 – триметилбицикло – [2.2.1]гепт – 2 – ил)тио)ацетат (соединение VI), экзо – 1,7,7 –триметилбицикло [2.2.1] гептан – 2 – ол (соединение VII) (рис. 1). В работе были использованы мицеллы на основе додецилфосфохолина и додецилсульфата натрия в роли моделей заряженных поверхностей биологической мембраны.

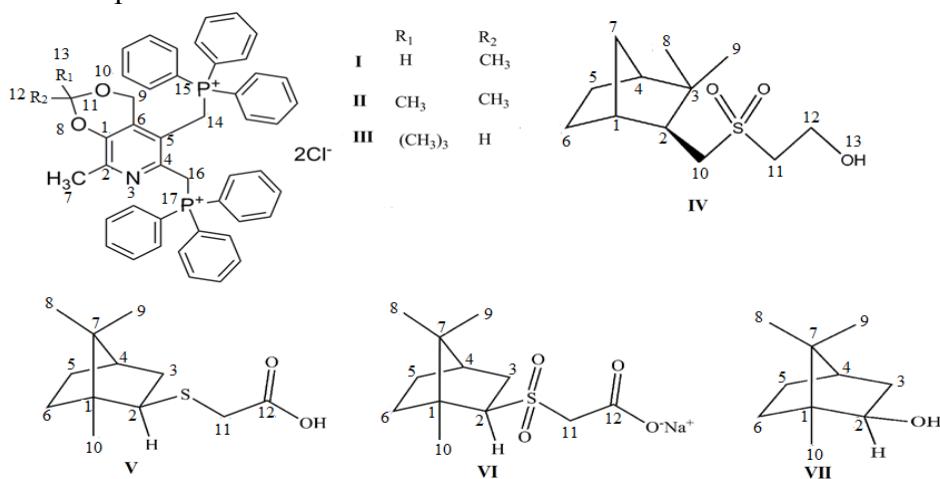


Рисунок 1 – Структурные формулы объектов исследования:
производные четвертичных фосфониевых солей (**I-III**), камfenовый сульфон (**IV**),
тиотерпеноиды барнановой серии (**V-VII**)

Методы исследования. В работе для выполнения указанных задач применялись следующие методы и методики ЯМР высокого разрешения: одномерная ЯМР спектроскопия на ядрах ^1H , ^{13}C , ^{31}P , двумерные гомоядерные (COSY, TOCSY) и гетероядерные корреляционные ЯМР методики (HSQC, HMBC), динамическая ЯМР спектроскопия на ядрах ^1H , двумерные методики ЯМР NOESY и ROESY, 2D DOSY спектроскопия. Эксперименты проводились на ЯМР спектрометре фирмы «Bruker» «AVANCE II – 500» (рабочая частота для ^1H 500 МГц, рабочая частота для ^{13}C 125 МГц) и на ЯМР спектрометре «Avance III HD 700» фирмы «Bruker» (рабочая частота для ^1H 700 МГц, рабочая частота для ^{13}C 175 МГц). Анализ полной формы линии проводили с помощью программного продукта WinDNMR-Pro 7.1.14. Оценочное моделирование возможных конформеров производных четвертичных фосфониевых солей было проведено методами молекулярной механики – ChemBio3D Ultra 12.0. Полуэмпирические расчеты энергетических барьеров вращения были проведены в теоретическом базисе PM3 с использованием программы HyperChem8.

Научная новизна:

1. Впервые для серии не изученных ранее производных четвертичных фосфониевых солей в растворе для компонентов конформационного обмена определена пространственная структура на основе анализа спектров ЯМР.
2. Определены термодинамические параметры, характеризующие конформационное равновесие (разность свободных энергий ΔG_0) и переходы между конформерами (энталпия активации ΔH^\ddagger и свободная энергия активации ΔG^\ddagger) для ранее неизученных производных четвертичных фосфониевых солей в растворе.
3. Впервые наблюдалось комплексообразование серосодержащих монотерпеноидов с мицеллами на основе ПАВ. Установлено пространственное строение молекулярных комплексов серосодержащие монотерпеноиды – модели клеточной мембрany.

Научная и практическая ценность:

1. Информацию о конформациях и термодинамических параметрах конформационного обмена производных четвертичных фосфониевых солей можно использовать при исследованиях более сложных соединений, со схожими структурными фрагментами.
2. Полученные знания о конформациях новых производных четвертичных фосфониевых солей могут быть полезны при изучении связи «структура – биологическая активность» подобного рода соединений.
3. Понимание механизмов взаимодействия терпеноидов с моделями клеточной мембрany важно для усовершенствования методов применения лекарственных препаратов и разработки новых лекарственных средств в целях профилактики и лечения острых сердечно – сосудистых заболеваний.
4. Знания о комплексах исследуемых терпеновых соединений с моделями клеточной мембрany позволяет прогнозировать свойства лекарственных препаратов.

Обоснованность и достоверность результатов подтверждается использованием современного оборудования и общепринятых методов спектроскопии ЯМР высокого разрешения и программного обеспечения, а также отсутствием противоречий между полученными результатами и результатами исследований родственных соединений с использованием альтернативных физических методов (например, рентгеноструктурного анализа). Помимо этого, достоверность результатов подтверждается статьями в рецензируемых изданиях, индексируемых базами данных Scopus и Web Of Science, опубликованными тезисами докладов на всероссийских и международных конференциях различного уровня.

На защиту выносятся положения, сформулированные в выводах.

Личный вклад автора: Участие в определении целей и задач исследования. Выполнение ЯМР экспериментов. Обработка полученных результатов экспериментов, их

анализ и интерпретация. Написание статей по теме исследования и представление результатов на различных российских и международных конференциях.

Апробация работы. Основные результаты работы были доложены на следующих научных школах и конференциях: международный симпозиум «Биохимия – основа наук о жизни» (г. Казань, 2013); «XX Всероссийская научная конференция студентов – физиков и молодых ученых» (г. Ижевск, 2014); международная конференция «Магнитный резонанс: фундаментальные исследования и новаторские приложения» (г. Казань, 2014); XVII международная молодежная научная школа «Актуальные проблемы магнитного резонанса и его приложений» (г. Казань, 2014); итоговая конференция института физики Казанского (Приволжского) федерального университета (г. Казань, 2015); VI всероссийская конференция «Новые достижения ЯМР в структурных исследованиях» (г. Казань, 2015); I Международная школа – конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Биомедицина, материалы и технологии XXI века» (г. Казань, 2015); международный симпозиум «Магнитный резонанс: от фундаментальных исследований к практическому применению» (г. Казань, 2016); Международная конференция «Трансляционная медицина 2016» (г. Казань, 2016); XXIV Всероссийская конференция «Структура и динамика молекулярных систем» (г. Йошкар – Ола, 2017); итоговая конференция института физики Казанского (Приволжского) федерального университета (г. Казань, 2019).

Диссертационная работа выполнена в Научной лаборатории ЯМР спектроскопии кафедры медицинской физики Института физики Казанского (Приволжского) федерального университета. Работа на отдельных этапах поддерживалась средствами субсидии, которая была выделена в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров и в рамках проекта 14 - 03 - 31064 мол_а «Синтез и исследование физико - химических и биологических свойств фосфониевых и аммониевых солей на основе пиридоксина».

Производные четвертичных фосфониевых солей были синтезированы в лаборатории отдела медицинской химии научно – образовательного центра фармацевтики КФУ под руководством д.х.н. Штырлина Ю.Г. Терпеноиды синтезированы в КГМУ на кафедре общей и органической химии под руководством д.х.н., профессора Никитиной Л.Е. Моделирование методом молекулярной динамики проведено при помощи к.ф.-м. н., доцента Халиуллиной А.В.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 12 работ, из них 3 статьи в рецензируемых изданиях и представленных в базы данных Scopus и Web of Science , 9 – тезисы докладов.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, четырех глав, выводов, списка публикаций автора, списка литературы из 170 наименований. Работа изложена на 133 страницах, содержит 56 рисунков и 11 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении дано обоснование актуальности диссертационной работы, сформулированы цель и задачи, приведены объекты и методы их исследования, отмечены научная новизна, научная и практическая ценность полученных результатов.

В первой главе содержится описание методов ЯМР спектроскопии, использованных при выполнении работы, включая NOESY, ROESY и DOSY.

Во второй главе описаны объекты исследования (рис.1) и методики ЯМР применительно к исследованию каждого класса соединений, а также методика расчета пространственных структур молекул в рамках метода молекулярной динамики.

В органическом синтезе большим спросом пользуются фосфорорганические соединения. В свою очередь, среди них повышенное внимание обращено на производные

солей четвертичного фосфония, так как их активно используют в медицинской химии. В частности, эти соединения обладают противоопухолевыми, противовирусными и др. свойствами.

Известно, что некоторые фосфониевые соли, обладают антибактериальной активностью в отношении золотистого стафилококка, кишечной палочки [7]. Производные четвертичных фосфониевых солей представляют собой циклические стереонежесткие молекулы. В таких соединениях возможны обратимые переходы, которые совершаются между состояниями с минимумами энергии с преодолением потенциального барьера по классическому механизму [8]. Показано, что за счет внутреннего движения фрагментов молекулы, при котором разрыв химических связей не происходит, собственно, молекула и переходит из состояния в состояние.

Области, где терпеноиды могут быть полезны, довольно обширны: их используют в медицине, пищевой промышленности, парфюмерных композициях.

По оценкам, около 80% населения всего мира используют для первой медицинской помощи традиционную медицину, а это использование растительных экстрактов или их активных соединений. В качестве подобных как раз и могут выступать монотерпеноиды.

Было показано, что монотерпены можно рассматривать как перспективные средства профилактики или лечения заболеваний сердечно – сосудистой системы [9]. Из литературных данных известно, что серосодержащие монотерпеноиды, обладают противогрибковыми, противовоспалительными, противоопухолевыми и др. свойствами. В целом, серосодержащие монотерпеноиды представляют собой соединения с низкой токсичностью и без мутагенных и генотоксических эффектов.

Третья глава посвящена результатам исследований производных четвертичных фосфониевых солей на основе пиридина: для каждого соединения приведены спектры ЯМР ^1H , измеренные при различных температурах, таблицы, с указанием параметров сигналов, показаны результаты оценочного моделирования возможных конформеров методами молекулярной механики и термодинамические параметры конформационных переходов (рис.1, соединения I–III).

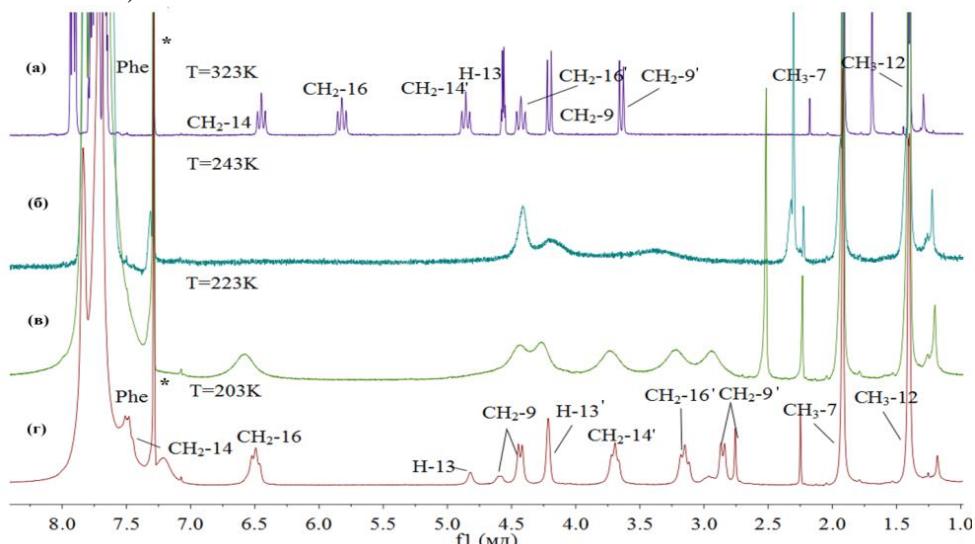


Рисунок 2 – Спектры ЯМР (^1H , 500 МГц) соединения I, растворенного в хлороформе при температурах 323К (а), 243К (б), 223К (в), 203К (г), * – сигнал растворителя

На рис.2 представлены спектры ЯМР ^1H соединения I, растворенного в хлороформе, измеренные при разных температурах. Химическая структура соединения I была установлена на основе совокупного анализа результатов одномерных ^1H , ^{13}C , ^{31}P и двумерных экспериментов ЯМР. Сигналы в спектре ЯМР ^1H были отнесены с использованием двумерных $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY, $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HSQC, $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HMBC, $^1\text{H} - ^1\text{H}$ NOESY спектров ЯМР, измеренных при температурах 323К и 203К.

Спектр ЯМР, измеренный при комнатной температуре (рис. 2а) соответствует быстрому (в шкале времени ЯМР) конформационному обмену. Для замедления скорости обмена был проведен ряд экспериментов ЯМР с понижением температуры.

В спектре ЯМР ^1H с понижением температуры наблюдаются изменения формы линий для $\text{CH}_2 - 9$, $\text{CH}_2 - 9'$, $\text{CH}_2 - 14$, $\text{CH}_2 - 14'$, $\text{CH}_2 - 16$, $\text{CH}_2 - 16'$. Сначала сигналы уширяются, при температуре 243К наблюдается коалесценция, а при температуре 203К сигнал представляет собой уже 4 дуплета различной интенсивности для $\text{CH}_2 - 9$, $\text{CH}_2 - 9'$ и по два триплета для $\text{CH}_2 - 14$, $\text{CH}_2 - 14'$ и для $\text{CH}_2 - 16$, $\text{CH}_2 - 16'$.

Увеличение количества сигналов с понижением температуры наблюдалось и в спектрах ЯМР на ядрах ^{31}P соединения I (рис. 3), что является дополнительным свидетельством того, что наблюдаемые изменения формы линии обусловлены замедлением процесса конформационного обмена.

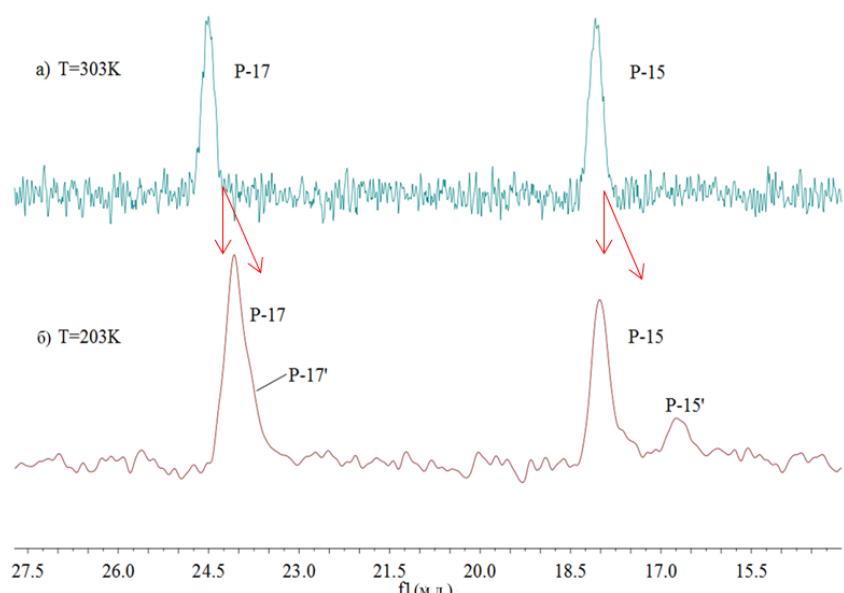


Рисунок 3 – Спектры ЯМР (^{31}P , 500МГц) соединения I в растворе CDCl_3 при температурах 303К (а) и 203К (б)

Проанализируем наблюдаемые изменения. В спектре ЯМР, измеренном при температуре 203К, количество сигналов $\text{CH}_2 - 9$ (рис. 2г) и P-15,17 (рис. 3) удвоилось. Это свидетельствует о замедлении конформационного обмена, поскольку спектр соответствует двум конформерам. Различная интенсивность линий говорит о том, что населенность двух конформаций различна, одна является энергетически более выгодной, чем другая. Сигналы при 2,86 и 4,43 м.д. относятся к доминирующей форме, а сигналы при 2,96 и 4,59 м.д. – к минорной. Интерес представляет эволюция формы линии сигналов $\text{CH}_2 - 14$, $\text{CH}_2 - 14'$ и $\text{CH}_2 - 16$, $\text{CH}_2 - 16'$. Количество сигналов в спектре, измеренном при низкой температуре, не изменилось, если сравнивать его со спектром, измеренным при комнатной температуре, однако, химические сдвиги сигналов существенно изменились. Указанные изменения являются следствием замедления конформационного обмена между двумя конформациями, при этом, энергия конформеров существенно отличается.

Разность между свободными энергиями Гиббса двух конформеров ΔG_0 вычислялась по формуле:

$$\Delta G_0 = -RT \ln (P_1/P_2),$$

где R – универсальная газовая постоянная, T – температура в градусах Кельвина (К), P_1 и P_2 – населенности соответствующих конформеров.

Для того, чтобы определить активационные параметры конформационных переходов, был проведен анализ формы линии сигналов ЯМР при различных температурах.

При различных температурах был проведен анализ формы линии сигналов протонов при атомах C14 и C16 с использованием программы WinDNMR-Pro 7.1.14 (рис. 4). Показано, что содержание доминирующего конформера составляет 75 %, а минорной формы - 25 %.

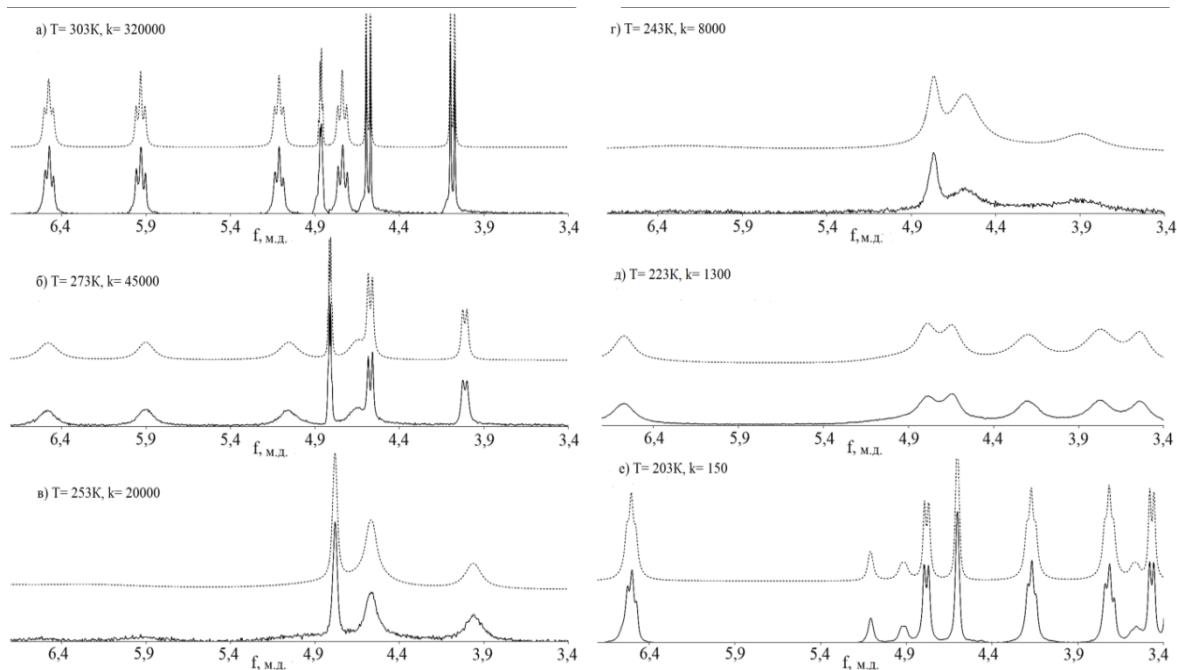
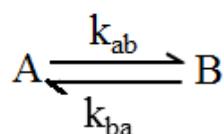


Рисунок 4 – Сравнение экспериментального (сплошная линия) и рассчитанного (пунктирная линия) фрагментов спектра соединения I, где k – константа скорости обмена, $[с^{-1}]$

Расчет константы скорости (k) проводился путем сравнения экспериментальной и рассчитанной форм сигналов ЯМР с использованием известных соотношений:



$$P_1 k_{ab} = P_2 k_{ba}; P_1 + P_2 = 1,$$

где P_1 и P_2 – доли соответствующих конформеров конформаций А и В в результирующем сигнале ЯМР.

Активационные параметры были рассчитаны с использованием уравнения Эйринга. Ошибки в определении активационных параметров ΔG^\ddagger не более чем 1 кДж/моль.

Свободные энергии активации обратимых реакций первого порядка, которые включают внутримолекулярные процессы вращения и взаимные превращения циклических систем, могут быть найдены с использованием следующих уравнений:

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger;$$

$$\ln (k/T) = - \Delta H^\ddagger / RT + \Delta S^\ddagger / R + 23.76,$$

где ΔH^\ddagger и ΔS^\ddagger – энталпия и энтропия активации, соответственно, R – универсальная газовая постоянная, T – температура в градусах Кельвина (К).

Было проведено оценочное моделирование возможных конформеров соединения I методами молекулярной механики MM2 в программе ChemOffice. Энергетически наиболее выгодные конформации были получены путем минимизации энергии исходных пространственных структур, которые многократно выбирались случайным образом. Из полученного набора возможных конформеров были выбраны наиболее энергетически выгодные для двух изомеров соединения I (рис. 5).

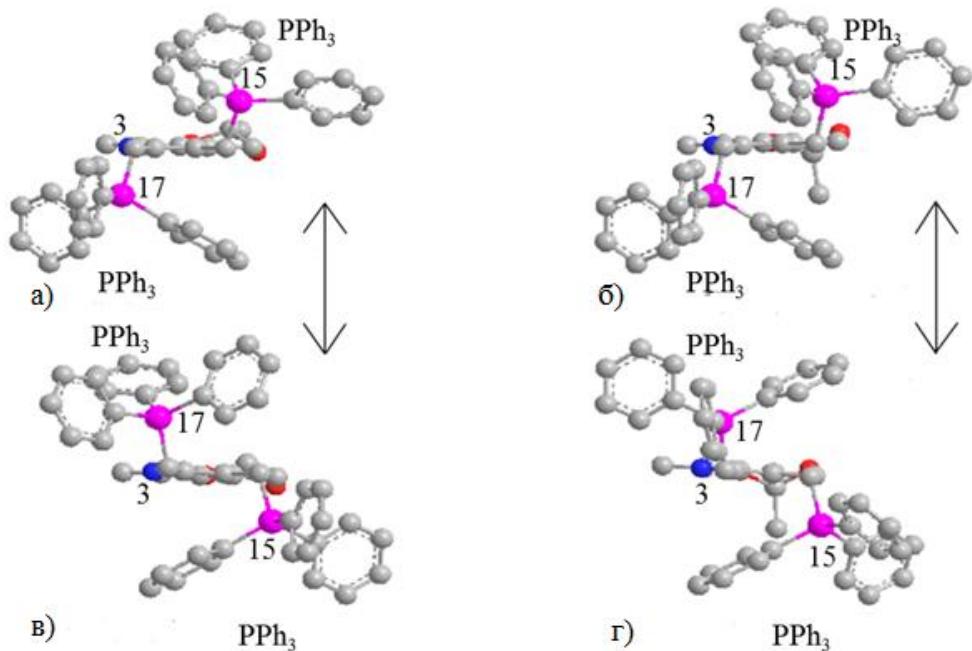


Рисунок 5 – Энергетически наиболее выгодные конформации соединения I для двух изомеров. Переход а)↔в) соответствует конформационным превращениям в первом изомере, б)↔г) – во втором изомере

Как видно из рис. 5 для обоих изомеров энергии конформеров заметно отличаются. Различие в энергиях обусловлено меньшей симметричностью конформаций вследствие зависимости энергии конформации от положения групп PPh_3 по отношению к единственной CH_3 группе при углероде C11.

При комнатной температуре соединение I находится в быстром конформационном обмене между двумя указанными формами, а при низкой температуре обмен замедляется и мы видим в спектре сигналы от двух конформаций – энергетически более выгодной (рис. 5а, б), вклад которой в результирующий сигнал будет больше (75%) и энергетически менее выгодной, вклад которой оказывается соответственно меньше (25%).

Между двумя структурами, которые получены за счет одновременных симметричных поворотов PPh_3 групп вокруг связей C5 - C14, C4 - C16 наблюдается конформационный обмен, однако, энергия конформеров оказывается различной.

В результате получены температурные зависимости константы скорости химического обмена, определены термодинамические параметры конформационных переходов, приведенные в таблице 1. Используя уравнение Эйринга и Винн – Джонса, путем обработки линейной зависимости константы скорости от температуры ($\ln\left(\frac{k}{T}\right)$ от T^{-1}), была рассчитана в точке энергия активации ΔG^\ddagger .

Таблица 1 – Термодинамические параметры конформационных переходов для соединения I

	ΔH^\ddagger , кДж/моль	ΔG^\ddagger , кДж/моль ($T_c=243$ К)	ΔG_0 , кДж/моль
C14	$37,4 \pm 0,5$	37,1	1.86
C14'	$37,4 \pm 0,5$	37,1	1.86
C16	$38,0 \pm 0,5$	36,8	1.86
C16'	$37,4 \pm 0,5$	37,1	1.86

Аналогичные исследования проведены для соединений **II**. Химическая структура соединения **II** была установлена на основе совокупного анализа результатов одномерных ^1H , ^{13}C и двумерных экспериментов ЯМР. Сигналы в спектре ЯМР ^1H были отнесены с использованием двумерных $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY, $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HSQC, $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HMBC и $^1\text{H} - ^1\text{H}$ NOESY экспериментов ЯМР, измеренных при температурах 303К и 203К.

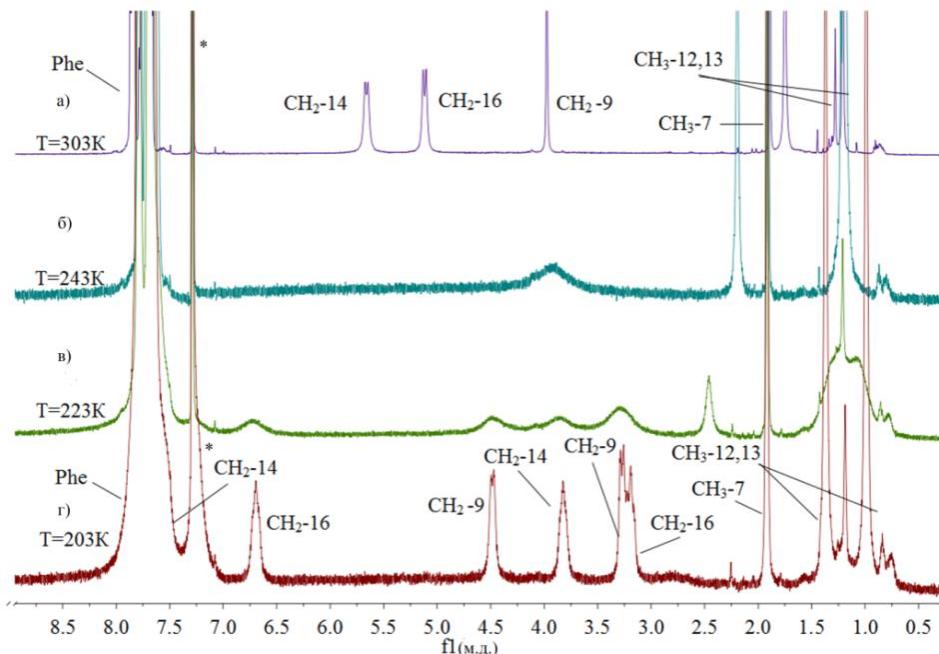


Рисунок 6 –Спектры ЯМР (^1H , 500 МГц) соединения **II**, растворенного в хлороформе при температурах 303К (а), 243К (б), 223К (в), 203К (г), * – сигнал растворителя

Как видно из рис. 6а, спектр ЯМР соединения **II**, измеренного при комнатной температуре, соответствует быстрому (в шкале времени ЯМР) конформационному обмену.

Понижение температуры позволяют замедлить конформационный обмен и получить информацию о трехмерной структуре соединения в растворе (рис. 6г). Так, в спектре ЯМР ^1H при понижении температуры наблюдаются изменения формы линий для $\text{CH}_3 - 12,13$, $\text{CH}_2 - 14$, $\text{CH}_2 - 16$. Вначале сигналы CH_3 групп уширяются, при температуре 243К наблюдается коалесценция, а при температуре 203К наблюдается уже 2 синглета для $\text{CH}_3 - 12,13$. Форма линий сигналов метиленовых протонов $\text{CH}_2 - 14$ и $\text{CH}_2 - 16$ также эволюционирует, с понижением температуры. Сигналы начинают уширяться, при температуре 243К наблюдается коллапс, а при температуре 203К сигналы представляют собой уже две пары триплетов (один триплет группы $\text{CH}_2 - 14$ перекрываеться с фенильной группой). Таким образом, спектр ЯМР соединения **II**, измеренный при низкой температуре соответствует медленному (в шкале времени ЯМР) конформационному обмену.

Интегральная интенсивность линий протонов $\text{CH}_2 - 14$ и $\text{CH}_2 - 16$, относящихся к различным конформациям, оказалась практически одинаковой, следовательно, исследуемое вещество, вероятно, участвует в конформационном обмене между двумя формами с примерно одинаковыми энергиями. Такие конформации, скорее всего, будут являться симметричными относительно пиридинового цикла.

Было проведено оценочное моделирование возможных конформеров соединения **II** методами молекулярной механики MM2 в программе ChemOffice. Энергетически наиболее выгодные конформации были получены путем минимизации энергии исходных пространственных структур, которые многократно выбирались случайным образом. Из полученного набора возможных конформеров были выбраны две, энергии которых оказались минимальными. Различия в энергиях данных конформеров составляет менее 1 ккал/моль (рис. 7).

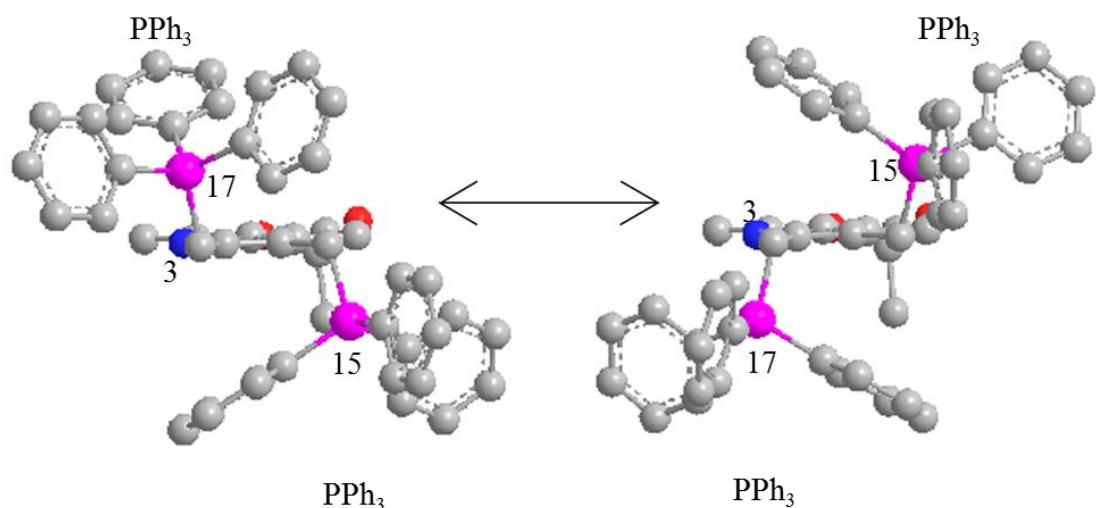


Рисунок 7 – Энергетически наиболее выгодные конформации соединения **II**, полученные с помощью моделирования методом молекулярной механики

Как видно из рис. 7, полученные конформации обладают практически одинаковой энергией (различие в 0,5 ккал/моль близко к погрешности расчетов метода MM2), следовательно, являются равновероятными. Наиболее стабильные конформации соединения **II** являются симметричными относительно пиридинового фрагмента. Переход из одной формы в другую осуществляется при симметричном одновременном повороте групп $\text{CH}_2 - 14 - \text{PPh}_3$ и $\text{CH}_2 - 16 - \text{PPh}_3$ вокруг связей $\text{C}5 - \text{C}14$ и $\text{C}4 - \text{C}16$ соответственно.

Как видно из рис. 7, в одной конформации группа $\text{C} - 14 - \text{PPh}_3$ обращена «вниз» по отношению к пиридиновому циклу, а группа $\text{C} - 16 - \text{PPh}_3$ – «вверх», во втором случае наоборот – группа $\text{C} - 14 - \text{PPh}_3$ обращена «вверх», а группа $\text{C} - 16 - \text{PPh}_3$ – «вниз». Геминальные протоны этих групп становятся неэквивалентными и в спектре, соответственно, должны представлять собой два дуплета. Однако, указанные сигналы также испытывают расщепление вследствие спин-спинового взаимодействия с атомом фосфора. Близость значений констант спин-спинового взаимодействия геминальных протонов между собой и с атомом фосфора ($J = 14$ Гц) приводит к тому, что сигналы в спектре представлены не квадруплетами, а триплетами.

Был проведен анализ формы линии для протонов при атомах $\text{C}12$ и $\text{C}13$, $\text{C}16$ и $\text{C}14$ при различных температурах с использованием программы WinDNMR-Pro 7.1.14.

В результате получены температурные зависимости приведенной константы скорости химического обмена $\ln\left(\frac{k}{T}\right)$ от (T^{-1}) . Аналогичным способом определены термодинамические параметры конформационных переходов, приведенные в таблице 2.

Таблица 2 – Термодинамические параметры конформационных переходов для соединения **II**

	ΔH^\ddagger , кДж/моль	ΔG^\ddagger , кДж/моль ($T_c=243$ К)
$\text{CH}_3 - 12,13$	38,0	37,9
$\text{CH}_2 - 14,16$	38,2	37,6

Аналогичные исследования проведены для соединений **III**. Химическая структура соединения **III** была установлена на основе совокупного анализа результатов одномерных

^1H , ^{13}C и двумерных экспериментов ЯМР. Сигналы в спектре ЯМР ^1H были отнесены с использованием двумерных $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY, $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HSQC, $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HMBC, $^1\text{H} - ^1\text{H}$ NOESY, $^1\text{H} - ^1\text{H}$ ROESY спектров ЯМР, измеренных при температурах 323К и 203К.

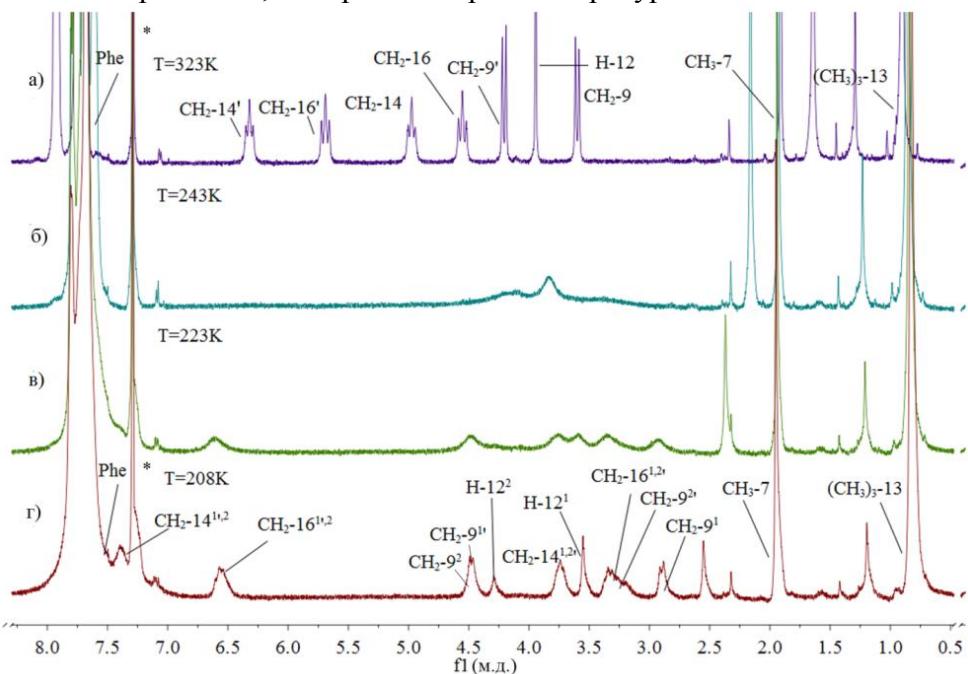


Рисунок 8 – Спектры ЯМР (^1H , 500 МГц) соединения III в CDCl_3 при температурах 323К (а), 243К (б), 223К (в), 208К (г), * – сигнал растворителя.

Индексы: 1 – доминантная форма, 2 – минорная форма

ЯМР спектр, измеренный при комнатной температуре (рис. 8а) соответствует быстрому (в шкале времени ЯМР) конформационному обмену. Для замедления скорости обмена был проведен ряд экспериментов ЯМР с понижением температуры измерения (рис. 8).

В спектре ЯМР ^1H с понижением температуры наблюдаются изменения формы линий для $\text{CH}_2 - 9$, $\text{CH}_2 - 14$ и $\text{CH}_2 - 16$. Вначале сигналы уширяются, при температуре 243К наблюдается коалесценция, а при температуре 208К сигнал представляет собой уже 4 дуплета различной интенсивности для $\text{CH}_2 - 9$ и две пары триплетов для $\text{CH}_2 - 14$, $\text{CH}_2 - 16$ (один триплет группы $\text{CH}_2 - 14$ перекрывается с фенильной группой).

Интерес представляет эволюция формы линии сигналов $\text{CH}_2 - 14$ и $\text{CH}_2 - 16$. Количество сигналов в спектре, измеренном при низкой температуре, осталось прежним по сравнению со спектром, измеренным при комнатной температуре, однако, химические сдвиги сигналов существенно изменились. Указанные изменения являются следствием замедления конформационного обмена между двумя симметричными конформациями. Анализ интегральных интенсивностей сигналов показал, что населенности двух равновесных состояний, соответствующих наиболее стабильным конформациям, соотносятся как 9:1.

На основании анализа формы линии сигнала $\text{H} - 12$ с помощью программы WinDNMR-Pro 7.1.14 были определены константы скоростей химического обмена при различных температурах (рис. 9). Активационная энергия конформационного обмена была рассчитана с использованием уравнения Эйринга. Полученная энергия активации при $T_c = 258\text{K}$ составляет $\Delta G^\ddagger = 34.9$ кДж/моль. Такой величине энергии активации могут теоретически соответствовать два процесса конформационного обмена – это вращение фрагмента PPh_3 вокруг связи C5 - C14, или вращение аналогичной группы вокруг связи C4 - C16 (рис. 10а).

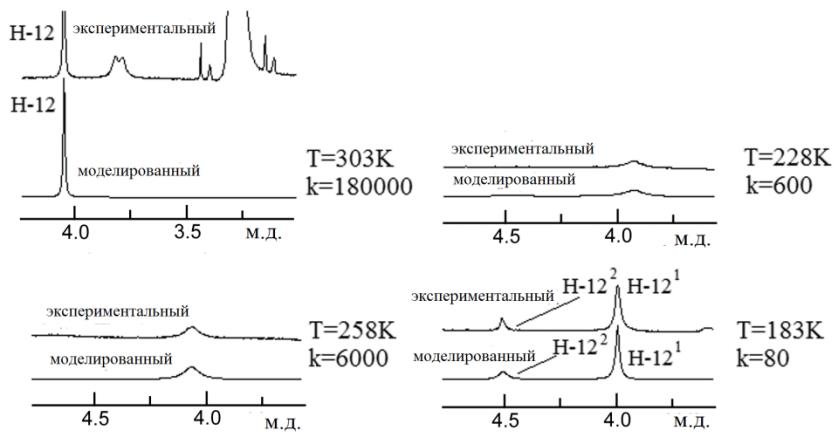


Рисунок 9 – Сравнение экспериментального и рассчитанного фрагментов спектра соединения III, где k – константа скорости обмена, $[с^{-1}]$

Для того, чтобы определить какой именно из процессов соответствует наблюдаемым эффектам в спектрах ДЯМР, были проведены полуэмпирические расчеты энергетических барьеров вращения в теоретическом базисе PM3 с использованием программы HyperChem8.

Две конформации, соответствующие минимумам энергии (доминантная и миорная формы) представлены на рис. 10б. Было показано, что наблюдаемый процесс конформационного обмена соответствует вращению вокруг связи C5 - C14.

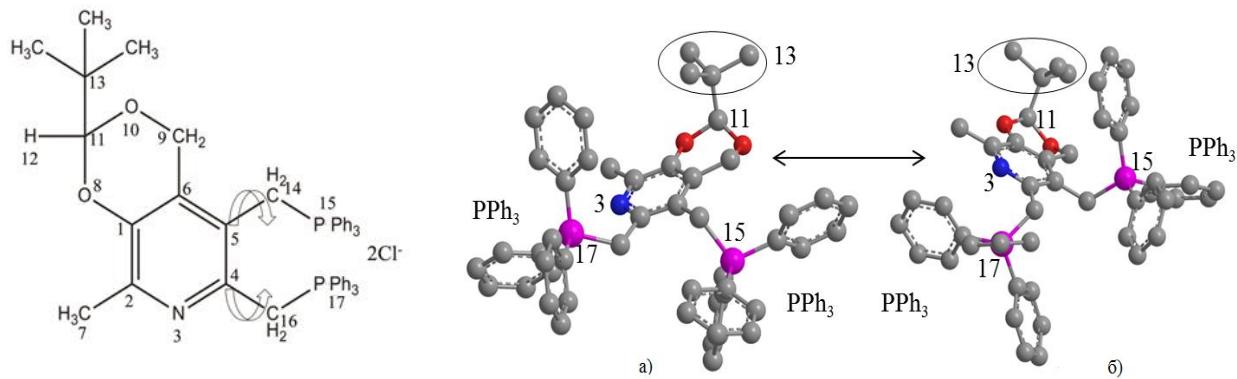


Рисунок 10 – а) Схематичное представление конформационного обмена соединения III, вызванного вращением фрагментов $\text{CH}_2-14 - \text{PPh}_3$ и $\text{CH}_2-16 - \text{PPh}_3$ вокруг связей C5 - C14 и C4 - C16, соответственно

б) Две конформации соединения **III**, соответствующие минимумам энергии (доминантная и миорная формы)

Энергия активации конформационного перехода ΔG^\ddagger рассчитывалась в точке согласно одному из уравнений Эйринга для грубой оценки энергетического барьера при данной температуре. В результате определено значение энергии активации конформационного обмена при $T_c=243\text{K}$ для функциональных групп CH_2 – 9, CH_2 – 14, CH_2 – 16: $\Delta G^\ddagger = 46,4 \text{ кДж/моль}$

При комнатной температуре молекула соединения находится в быстром конформационном обмене между двумя указанными формами, а при низкой температуре обмен замедляется, и мы наблюдаем в спектрах ЯМР сигналы от двух конформаций – энергетически более выгодной, вклад которой в результирующий сигнал будет больше, и энергетически менее выгодной, сигналы от которой имеют меньшую интенсивность. Анализ интегральной интенсивности сигналов показал, что заселенности конформеров находятся в соотношении 9:1. Для соединения **III** было показано, что увеличение размера заместителя при атоме углерода C - 11 приводит к увеличению разности конформационной свободной

энергии двух стабильных конформеров и, соответственно, росту различия в их заселенности. Заселенности устойчивых конформеров (в %), конформационные свободные энергии ΔG_0 и значения свободной энергии активации ΔG^\ddagger , соответствующие конформационным переходам для соединения **III** приведены в таблице 3.3.2.

Таблица 3.3.2 – Заселенности устойчивых конформеров (в %), конформационные свободные энергии ΔG_0 и значения свободной энергии активации ΔG^\ddagger , соответствующие конформационным переходам для соединения **III**

Соотношение заселеностей конформеров		ΔG^\ddagger , кДж/моль	ΔG_0 , кДж/моль
Доминирующая форма	Минорная форма		
90%	10%	46,4	4,4

В четвертой главе приводится описание результатов исследований пространственного строения комплексов серосодержащих терпеноидов с моделями биологических мембран: мицеллы додецилсульфата натрия и мицеллы додецилфосфохолина.

Для установления возможного молекулярного механизма взаимодействия соединения **IV** с фосфолипидными мембранами были использованы методики спектроскопии ЯМР. Время релаксации протонов фосфолипидных агрегаций слишком мало относительно шкалы времени ЯМР, что приводит к значительному уширению ЯМР сигналов. Чтобы получить информацию о взаимодействие исследуемого соединения с поверхностью клетки были использованы мицеллы додецилсульфата натрия (SDS) (рис. 11), которые обычно применяются в ЯМР исследованиях в качестве простейшей адекватной модели клеточной мембраны.

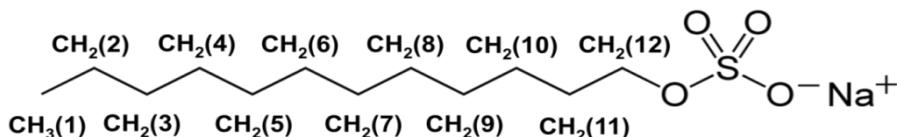


Рисунок 11 – Химическая структура додецилсульфата натрия (SDS)

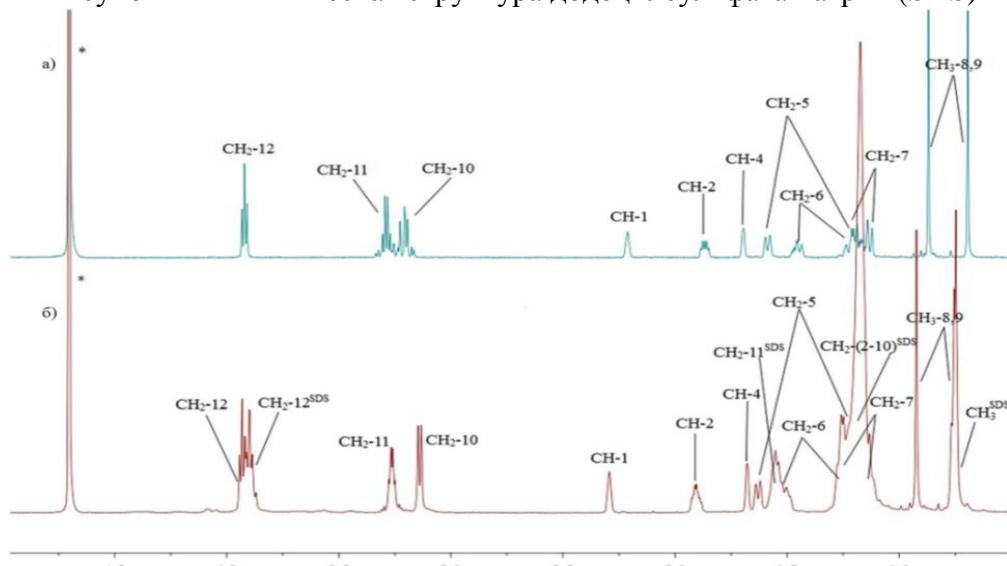


Рисунок 12 – Спектры ЯМР (¹H, 500 МГц) соединения **IV** в D_2O (а) и $\text{D}_2\text{O} + \text{SDS}$ (б) растворы при $T = 293\text{K}$, * – сигнал растворителя

Полное отнесение сигналов в спектре ЯМР ^1H исследуемого соединения (рис. 12) проводили с помощью экспериментов 2D COSY, TOCSY и на основе анализа мультиплетности сигналов, их интегральных интенсивностей, а также характеристических химических сдвигов.

Спектр ЯМР ^1H соединения **IV** значительно изменяется в присутствии мицелл SDS (рис. 12б). Если провести сравнение со спектром в растворе дейтерированной воды, то можно заметить, что некоторые сигналы уширились и их положение изменилось. Существенные различия наблюдаются для протонов групп $\text{CH}_2 - 10$ и $\text{CH}_2 - 11$. Так, $\text{CH}_2 - 10$ преобразуется в дублет, а сигнал метиленовых протонов $\text{CH}_2 - 11$ уширяется, указывая на некоторые структурные изменения соединения.

Сигналы CH – 1 и CH – 2 смещены в более низкое поле. Другие сигналы ЯМР почти не изменились. Эти различия между спектрами ЯМР ^1H соединения в отсутствие и в присутствии мицелл SDS можно объяснить некоторым дополнительным взаимодействием соединения **IV** с мицеллой. Большие изменения сигналов CH_2 – 10 и CH_2 – 11 позволили выдвинуть предположение, что сульфоновая группа может быть связующим участком молекулы в комплексе с мицеллами SDS.

Чтобы доказать, что соединение **IV** образует межмолекулярный комплекс с мицеллой SDS, были проведены эксперименты DOSY (рис. 13). Коэффициент самодиффузии соединения **IV** в растворе D₂O составляет $(5,6 \pm 0,1) \times 10^{-10} \text{ м}^2\text{с}^{-1}$ (получен из спектра 2D DOSY).

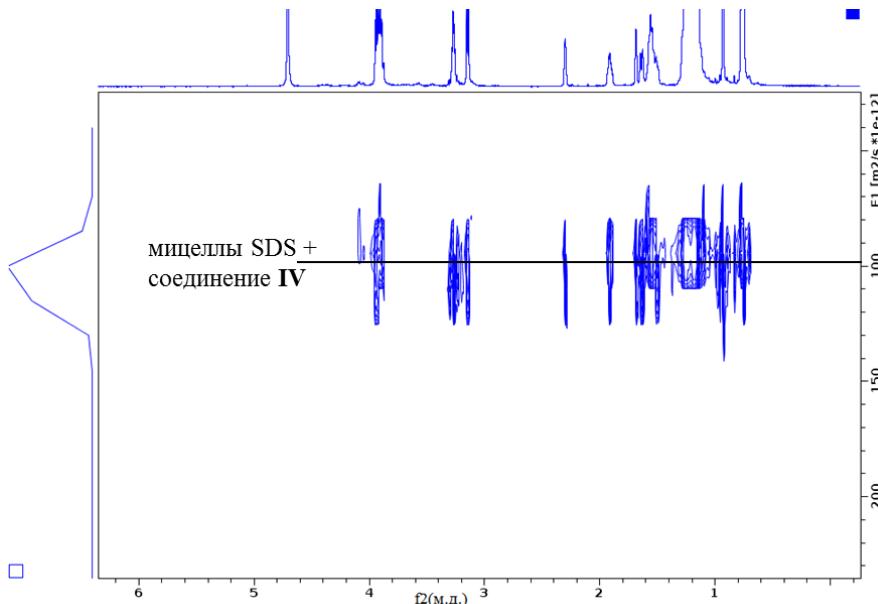


Рисунок 13 – Спектр ЯМР DOSY (^1H , 500 МГц) соединения **IV** с мицеллами SDS в растворе дейтерированной воды при $T = 293\text{K}$

Но в растворе $D_2O + SDS$ коэффициент трансляционной диффузии соединения **IV** изменяется. Значения указанного коэффициента совпадает со значением коэффициента самодиффузии для мицелл SDS : $(1,0 \pm 0,2) \times 10^{-10} \text{ м}^2 / \text{с}$. Это означает, что соединение **IV** достаточно прочно связывается с мицеллами в растворе D_2O .

Для исследования молекулярного механизма образования комплексов был проведен эксперимент 2D NOESY (рис. 14). В спектре наблюдается несколько кросс-пиков, соответствующих межмолекулярным контактам. Кросс-пики между протонами CH_2 – 12 SDS (12^{SDS}) и протонами CH_2 – 2, CH_2 – 9, CH_2 – 10 указывают на то, что соединение **IV** взаимодействует с поверхностью мицеллы. Вероятно, один или оба кислородных атома сульфоновой группы соединения **IV** связываются с полярными группами молекулы SDS, что обуславливает появление в спектре межмолекулярных кросс-пиков с соседними CH_2 – 2, CH_2 – 9 и CH_2 – 10.

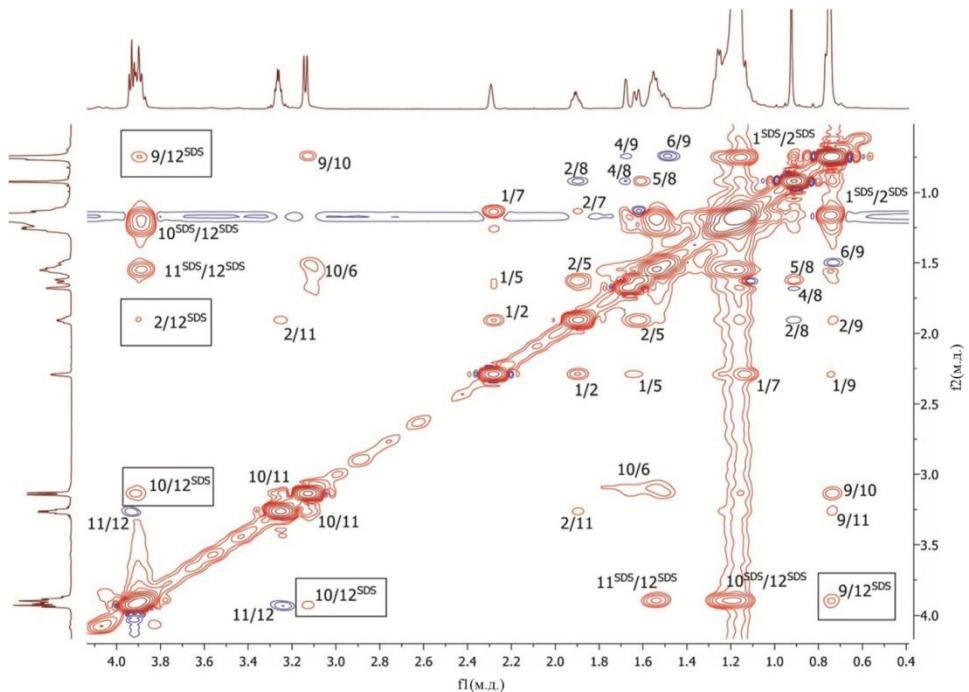


Рисунок 14 – ЯМР спектр 2D NOESY соединения **IV** в растворе $\text{D}_2\text{O}+\text{SDS}$ при $T=293$ К. Кросс-пики, соответствующие межмолекулярным контактам показаны в прямоугольниках. Нумерация протонов соединения **IV** и SDS соответствует рисункам 1 и 11, соответственно. Время смешивания 0.3с

В связи с этим возникает вопрос, как именно терпеновый фрагмент расположен в мембране мицеллы SDS? Чтобы получить ответ на этот вопрос, было выполнено моделирование методом классической молекулярной динамики (МД).

Снимок исследуемого соединения в мицелле SDS при времени расчета траектории МД 10 нс показывает, что молекула соединения **IV** входит внутрь мицеллы (рис. 15). Визуальный осмотр комплекса сульфон / мицелла указывает на то, что соединение **IV** встроено его бициклической частью внутрь мицеллы SDS, а фрагмент $\text{SO}_2(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ расположен на внешней поверхности мицеллы SDS и доступен для растворителя.

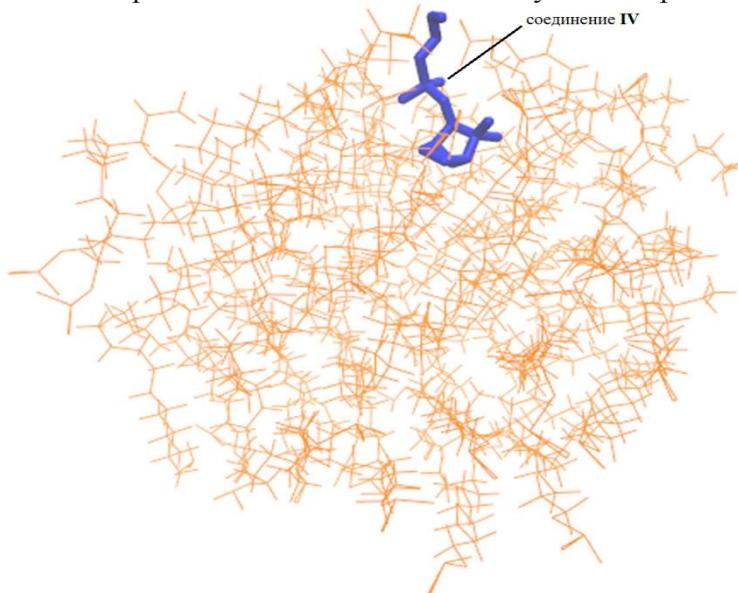


Рисунок 15 – Результаты молекулярно – динамического моделирования соединения **IV** в мицеллах SDS

Завершают исследования новые тиотерпеноиды борнановой серии (рис.1, соединения **V–VII**). Было сделано предположение, что именно борнановый скелет тиотерпеноидов будет более эффективным в плане стабилизации фосфолипидных мембран по сравнению с пинановой и камfenовой структурами, изученными ранее, так как он конформационно жесткий и может быть пригоден для закрепления в липидном бислое.

Ранее было показано, что терпены, не содержащие других функциональных групп, кроме двойных связей, не оказывают влияния на гемостаз. В связи с этим, наряду с серосодержащими соединениями **V** и **VI**, был исследован терпеновый спирт – изоборнеол (соединение **VII**), соответствующий по структуре терпеновому фрагменту соединений **V, VI**.

Взаимодействие низкомолекулярных соединений с фосфолипидными мембранами может быть эффективно изучено методами ЯМР спектроскопии ядерного эффекта Оверхаузера (ЯЭО). Однако этот метод имеет некоторые ограничения при применении к ЯМР исследованиям в растворе из-за слишком короткого времени релаксации протонов (в шкале времени ЯМР), приводящего к значительному уширению сигналов ЯМР. Решение этой проблемы может быть найдено с использованием модельных систем, таких как мицеллы додецилфосфохолина (DPC) (рис. 16).

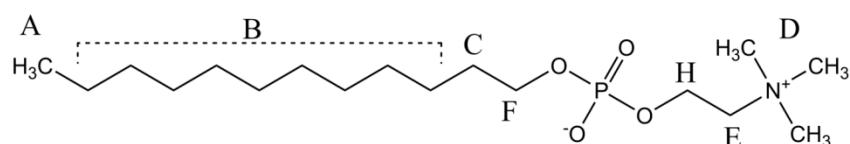


Рисунок 16 – Химическая структура додецилфосфохолина (DPC)

Додецилфосфохолин имеет ту же самую цвиттерионную головную группу как фосфатидилхолин и может быть применен в качестве модели мембраны эукариотической клетки. В тоже время, мицеллы DPC удобнее, чем фосфолипидные бислои вследствие их меньшего размера и большим временем корреляции во временной шкале ЯМР и более подходят для ЯМР спектроскопии в растворе, как это было показано в ряде исследований.

Для изучения влияния различных заместителей при C-2 на взаимодействие производных борнана с фосфолипидными мембранами проведены ЯМР эксперименты на соединениях **V, VI, VII** как в присутствие, так и в отсутствие модельных мембран – мицелл DPC. Отнесения сигналы ^1H и ^{13}C исследуемых соединений в растворе были установлены на основании анализа спектров ЯМР 2D $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY, $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HSQC и $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HMBC.

Соединение **V** плохо растворяется в воде, поэтому оно вначале было растворено в растворе CDCl_3 (рис. 17а). Однако оказалось, что соединение **V** достаточно растворимо в D_2O в присутствие мицелл DPC. Спектр ЯМР ^1H соединения **V** в растворе CDCl_3 значительно отличается от того, что наблюдается в растворе $\text{D}_2\text{O} + \text{DPC}$ (рис.17б). В присутствии мицелл DPC все резонансные линии уширяются и смещаются в область высоких полей. Такие изменения в спектре могут возникать при взаимодействии соединения **V** с мембраной DPC и являться индикаторами возможного комплексообразования.

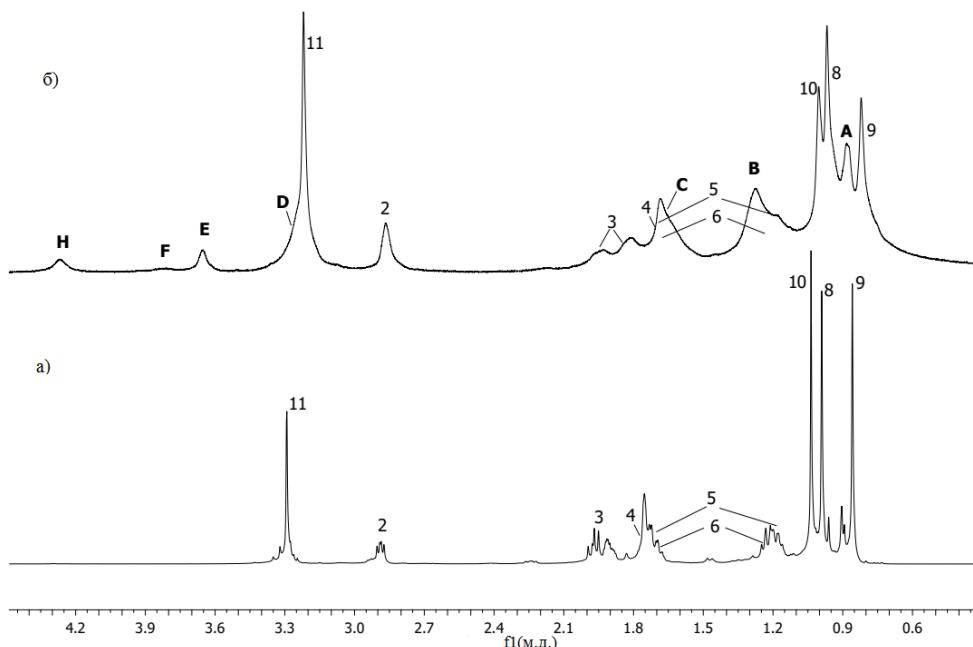


Рисунок 17 – Спектры ЯМР (^1H , 700 МГц) соединения **V** в CDCl_3 (а) и в $\text{D}_2\text{O}+\text{DPC}$ (б), $T=303\text{K}$. Числа соответствуют нумерации атомов соед. **V**; латинские буквы – атомам DPC

Чтобы установить, образует ли соединение **V** комплекс с мицеллами DPC и далее исследовать структуру образуемого комплекса, был записан и проанализирован спектр 2D NOESY (рис. 18). К сожалению, большинство кросс-пиков, были перекрыты с теми, которые могли бы соответствовать межмолекулярным контактам, накладываются на те, которые соответствуют внутримолекулярным взаимодействиям. Тем не менее, в спектре четко различаются кросс-пики между ЯМР сигналом H-2 соединения **V** и сигналами протонов H, F и E от DPC. Поэтому было сделано заключение, что соединение **V** образует стабильный молекулярный комплекс с мицеллами DPC и относительно глубоко проникает в его поверхность своим циклическим фрагментом. Расположение и ориентация заместителя $-\text{SCH}_2\text{COOH}$ не могли быть определены из данных ЯМР, потому что единственный сигнал ЯМР ^1H CH_2 – 11 этого фрагмента перекрывался с сигналом метильных протонов D ацетилхолиновой группы DPC.

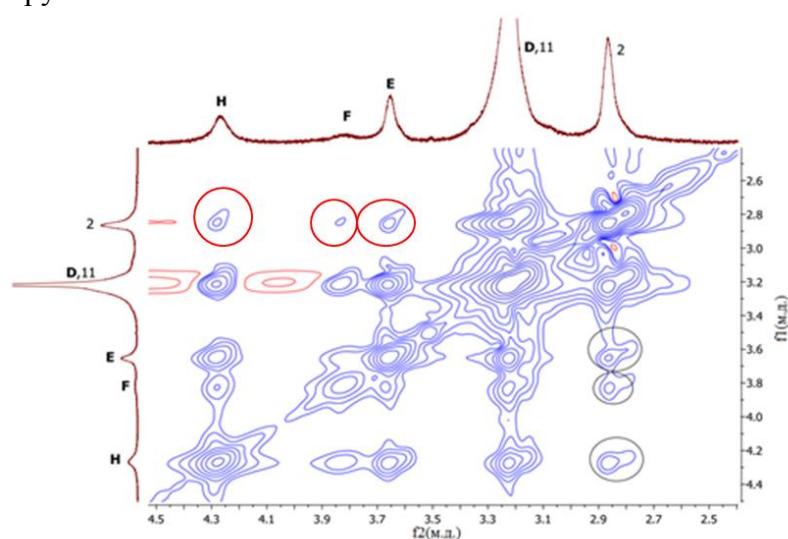


Рисунок 18 – Фрагмент 2D NOESY ЯМР спектра соединения **V** в $\text{D}_2\text{O}+\text{DPC}$, $T=303\text{K}$. Цифры над линиями соответствуют нумерации атомов соединения **V**; латинские буквы – атомам DPC. Межмолекулярные кросс-пики обведены кружками

Для исследования взаимодействия соединения **VI** с моделью мембраны на основе мицелл DPC в растворе были записаны 1D спектры ЯМР на ядрах ^1H и проведены 2D эксперименты NOESY. Как видно из рис. 19A, спектр ЯМР ^1H соединения **VI** в D_2O незначительно отличается от спектра того же соединения в D_2O в присутствие мицелл DPC. Все сигналы ЯМР соединения **VI** немного смещены в высокопольную часть спектра, но форма сигналов почти не изменяется в присутствие мицелл DPC. Линии оставались хорошо разрешенными и существенного уширения не наблюдалось. Таким образом, для соединения **VI** по данным ЯМР ^1H не было получено доказательств образования молекулярного комплекса с мицеллами DPC. В 2D спектрах NOESY соединения **VI** в присутствие мицелл DPC также не обнаружено кросс-пиков, которые могли бы быть отнесены к межмолекулярным контактам.

Чтобы дополнительно проверить, образуется ли комплекс соединение **VI** с мицеллами DPC, был также проведен эксперимент 2D DOSY (рис. 19б).

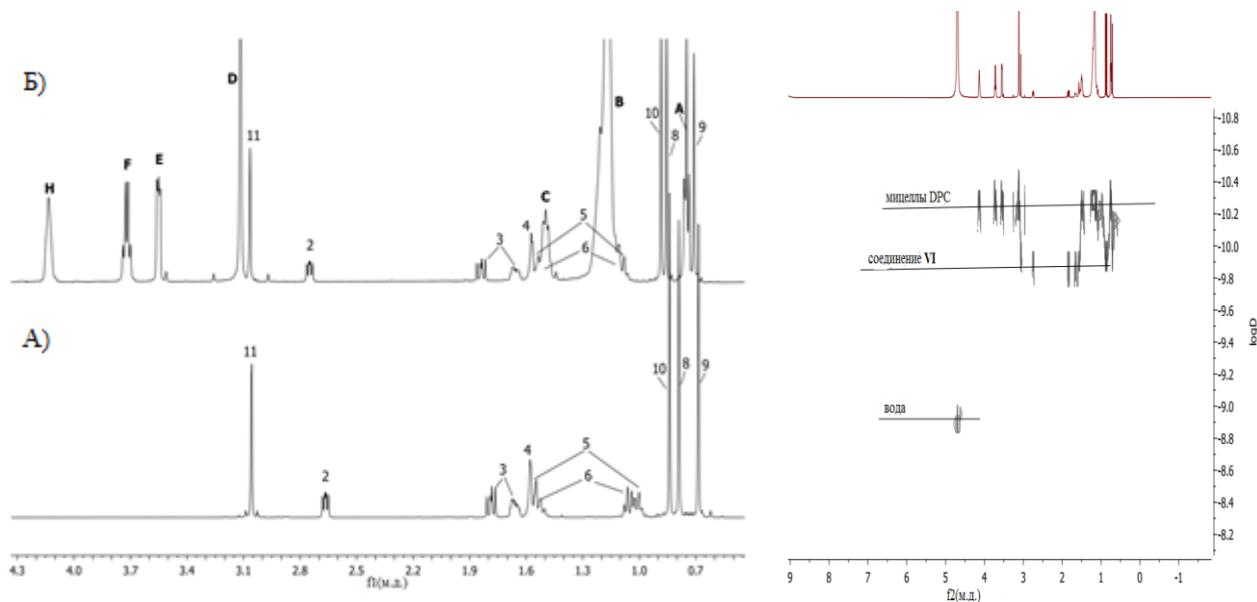


Рисунок 19 – а) Спектры ЯМР (^1H , 700 МГц) соединения **VI** в D_2O (а) и в $\text{D}_2\text{O}+\text{DPC}$ (б),

Т = 303К. Цифры над линиями соответствуют нумерации атомов соединения **VI**;

латинские буквы – атомам DPC

б) Спектр ЯМР DOSY (^1H , 700 МГц) соединения **VI** с мицеллами DPC в растворе дейтерированной воды при Т= 303К

Его анализ дал существенно различающиеся значения коэффициентов трансляционной диффузии для мицелл DPC ($D=10.3 \cdot 10^{-11} \text{ м}^2/\text{с}$) и для соединения **VI** ($D=9.9 \cdot 10^{-10} \text{ м}^2/\text{с}$). Этот факт указывает на то, что соединение **VI** и мицеллы DPC существуют в растворе раздельно, т.е. молекулярные комплексы не образуются.

Спектр ЯМР ^1H соединения **VII** в растворах D_2O в отсутствии и присутствии мицелл DPC приведен на рис. 20. Видно, что спектр ЯМР ^1H изоборнеола в присутствии мицелл DPC почти идентичен спектру этого соединения в растворе D_2O . Для проверки возможности образования молекулярного комплекса изучаемого соединения **VII** с мицеллами на основе додецилфосфохолина был записан 2D спектр NOESY. Однако в спектре наблюдаются лишь кросс-пики, которые соответствуют внутримолекулярным взаимодействиям. Кроме того, 2D DOSY эксперимент показывает, что соединение **VII** и мицеллы DPC имеют сильно различающиеся коэффициенты трансляционной диффузии в их совместном растворе в D_2O ($3.41 \cdot 10^{-10}$ и $8.67 \cdot 10^{-11}$, соответственно). Таким образом, данные ЯМР не дают доказательств образования стабильного комплекса между мицеллами DPC и соединением **VII**.

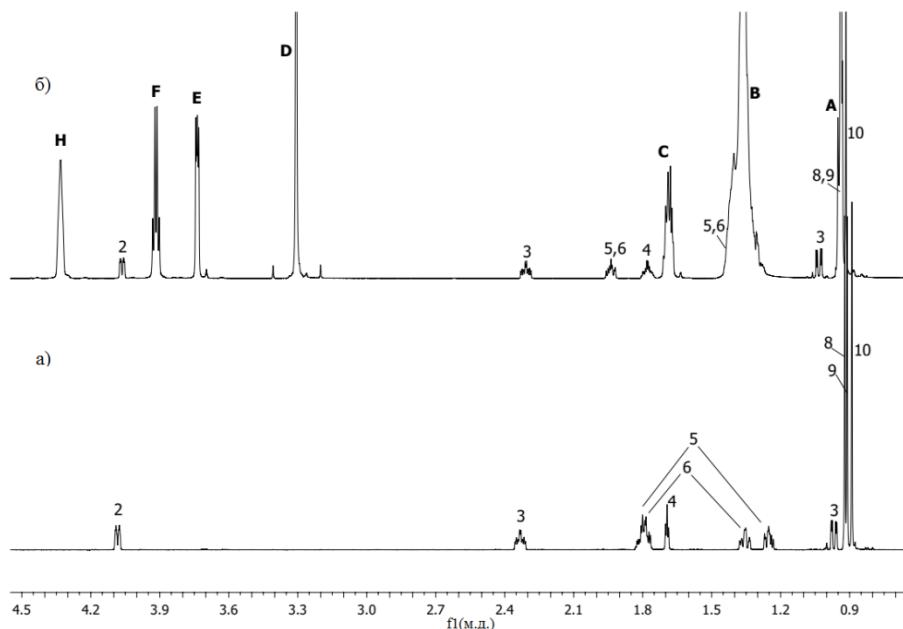


Рисунок 20 – Спектры ЯМР (^1H , 700 МГц) соединения VII в D_2O (а) и в $\text{D}_2\text{O}+\text{DPC}$ (б), $T=303\text{K}$. Цифры соответствуют нумерации атомов соединения VII; латинские буквы – атомам DPC

Таким образом, можно утверждать, что по данным ЯМР соединение V встроено в поверхность мицелл DPC в растворе D_2O . При этом никаких доказательств межмолекулярных взаимодействий с мицеллами DPC в растворе D_2O для соединений VI и VII, приводящих к образованию комплексов, не было получено.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Впервые, применяя комплекс методов одномерной (^1H , ^{13}C) спектроскопии, включая динамический ЯМР, и двумерной гомоядерной, гетероядерной и NOESY ($^1\text{H} - ^1\text{H}$) спектроскопии ЯМР и расчетного моделирования определены основные конформации производных четвертичных фосфониевых солей в растворе.
2. Методом анализа полной формы линии ЯМР ^1H с использованием расчетного моделирования определены активационные параметры, характеризующие конформационное равновесие (разность свободных энергий ΔG_0) и переходы между конформерами (свободная энергия активации ΔG^\ddagger) в производных четвертичных фосфониевых солей.
3. Методами одномерной (^1H , ^{13}C) спектроскопии и двумерной гомоядерной, гетероядерной и NOESY ($^1\text{H} - ^1\text{H}$) спектроскопии ЯМР определено пространственное строение новых серосодержащих терпеноидов.
4. На основе анализа данных DOSY и двумерной NOESY ($^1\text{H} - ^1\text{H}$) спектроскопии ЯМР изучено комплексообразование серосодержащих терпеноидов с мицеллами на основе ПАВ и установлено пространственное строение молекулярного комплекса камfenовый сульфон (соединение IV) – модель клеточной мембраны в растворе D_2O . Показано, что молекула триметилбицикло-[2.2.1]гепт-2-илтио)уксусной кислоты (соединение V) встроена в поверхность мицелл на основе додецилфосфохолина в растворе D_2O .

ЦИТИРУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Berger, S. 200 and more experiments. A practical course [Text] / S. Berger, S. Braun // WILEY – VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. – 2004. – 838 p.
2. Польшаков, В.И. Методы ЯМР для скрининга и изучения взаимодействия биомишен-лиганд [Текст] / В.И. Польшаков, Е.А. Батуев, А.Б. Манцызов // Успехи химии – 2018. – Т.88, № 1. – С. 59-98.
3. Пугачев, М.В. Синтез и антибактериальная активность фосфониевых солей на основе производных пиридоксина [Текст] : дис. на соиск. учен. степ. канд. хим. наук: 02.00.03 / М.В. Пугачев; Каз. (Прив.) фед. ун-т. – Казань, 2014. – 142 л.
4. Cardiovascular effects of monoterpenes: a review [Text] / M. R. V. Santos, F. V. Moreira, B. P. Fraga et al. // Revista Brasileira de Farmacognosia – 2011. – V. 21, № 1. – P. 764–771.
5. Antifungal activity of bicyclic monoterpenoids and terpenesulfides [Text] / L. E. Nikitina, V. A. Startseva, L. Y. Dorofeeva et al. // Chemistry of Natural Compounds – 2010. – V. 46, № 1. – P. 28–32.
6. A spatial structure of tripeptides glycylglycyl-L-histidine and glycylglycyl-L- tyrosine based on residual dipolar couplings and quantum-chemical computations [Text] / V.V. Klochkov, A.V. Klochkov, M.N. Schamsutdinov et. al. // Mendeleev Communications. – 2011. –V.21, № 2. – P.72–74.
7. Study of quaternary ‘onium’ salts grafted on polymers: antibacterial activity of quaternary phosphonium salts grafted on ‘gel-type’ styrene–divinylbenzene copolymers [Text] / A. Popa, C. Davidescu, R. Trif et al. // Reactive and Functional Polymars. – 2003. – V. 55, № 2. – P. 151–158.
8. Рахматуллин, И.З. Пространственное строение и внутримолекулярная подвижность некоторых биологически активных веществ (производные пиридоксина, статины) по данным методов ЯМР спектроскопии [Текст] : дис. на соиск. учен. степ. кан. физ.- мат. наук : 01.04.07 / И.З. Рахматуллин; Каз. (Прив.) фед. ун-т. – Казань, 2015. – 130 л.
9. Sulfur – containing derivatives of mono- and bicyclic natural monoterpenoids [Text] / G. Y. Ishmuratov, M. P. Yakovleva, V. S. Tukhvatshin et al. // Chemistry of Natural Compounds – 2014. – V. 50, № 1. – P. 22–47.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи:

1. **Aganova, O.V.** The Study of the Conformation and Dynamics of the New Quaternary Phosphonium Salts by NMR Spectroscopy [Text] / O.V. Aganova, L.F. Galiullina, A.V. Aganov, Yu.G. Shtyrlin, M.V. Pugachev, N.V. Shtyrlin, V.V. Klochkov // Applied Magnetic Resonance – 2014 – V. 45, № 7. – P. 653–665.
2. **Aganova, O.V.** Synthesis of a new quaternary phosphonium salt: NMR study of the conformational structure and dynamics [Text] / O.V Aganova, L.F Galiullina, A.V. Aganov, N.V Shtyrlin, M.V. Pugachev, A.D. Strel’nik, S.A. Koshkin, Y.G. Shtyrlin, V.V. Klochkov // Magnetic Resonance in Chemistry – 2016. – V.54, № 4. – P. 320–327.
3. Nikitina, L. E. Development of Approaches to the Study of the Interaction of Biologically Active Thioterpenoids with Model Membranes [Text] / L.E. Nikitina, S.V. Kiselev, A.V. Bodrov, V.A. Startseva, N.P. Artemova, V.V. Klochkov, L.F. Galiullina, **O.V. Aganova**, A.V. Khaliullina, O.A. Lodochnikova, Z. R. Azizova, A.A. Rakhmatullina // BioNanoScience – 2017 – V.7, № 4. – P. 600–607.

Тезисы докладов:

1. **Аганова, О.В.** Исследование конформационной структуры и динамики новых четвертичных фосфониевых солей методами ЯМР спектроскопии [Текст] / О.В. Аганова, Л.Ф. Галиуллина, А.В. Аганов, М.В. Пугачев, Н.В. Штырлин, Ю.Г. Штырлин, В.В. Клочков // Биохимия – основа наук о жизни: Международный симпозиум, посвященный 150 – летию образования кафедры биохимии Казанского университета: сборник трудов (Казань, 21-23 ноября 2013 г. / ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», кафедра биохимии; сост. Акберова Н.И. – Казань, 2013. – 151 с. – С. 30-31.
2. **Аганова, О.В.** Исследование конформаций и динамики новых четвертичных фосфониевых солей на основе пиридина методами ЯМР спектроскопии [Текст] / О.В. Аганова, Л.Ф. Галиуллина, А.В. Аганов, М.В. Пугачев, Н.В. Штырлин, Ю.Г. Штырлин, В.В. Клочков // Сборник тезисов, материалы XX Всероссийской научной конференции студентов-физиков и молодых ученых (ВНКСФ-20, Ижевск): материалы конференции, тезисы докладов: В 1 т. Т.1 – Екатеринбург – Ижевск: издательство АСФ России, 2014. – 660 с. – С. 366.
3. **Aganova, O.V.** The study of the conformation and dynamics derivative of the new quaternary phosphonium salts by NMR spectroscopy [Text] / O. V. Aganova, L. F. Galiullina, A. V. Aganov, V. V. Klochkov // International Conference «Magnetic Resonance: Fundamental Research and Pioneering Applications» : Book of abstracts – Kazan, 2014. – P. 84.
4. **Aganova, O.V.** The study of the conformation and dynamics derivative of the new quaternary phosphonium salts by NMR spectroscopy [Text] / O. V. Aganova, L. F. Galiullina, A. V. Aganov, V. V. Klochkov // Actual problems of magnetic resonance and its application: program lecture notes proceedings of the XVII International Youth Scientific School (Kazan, 22-27 June 2014) / edited by M.S. Tagirov (Kazan Federal University), V.A. Zhikharev (Kazan State Technological University). Kazan: Kazan University, 2014. – 166 p. – P. 100-101.
5. **Аганова, О.В.** Исследование пространственного строения производных терпеноидов, в том числе в комплексах с мицеллами, методами ЯМР спектроскопии [Текст] / О.В. Аганова, Л.Ф. Галиуллина, Л.Е. Никитина, А.В. Аганов, В.В. Клочков // VI Всероссийская конференция «Новые достижения ЯМР в структурных исследованиях»: Сборник тезисов – Казань, 2015. – С. 79-80.
6. Галиуллина, Л.Ф. Исследование пространственной структуры лекарственных средств, а также их комплексов с модельными мембранами в растворе методами ЯМР спектроскопии [Текст] / Л.Ф. Галиуллина, И.З. Рахматуллин, **О.В. Аганова**, А.В. Аганов, В.В. Клочков // VI Всероссийская конференция «Новые достижения ЯМР в структурных исследованиях»: Сборник тезисов – Казань, 2015. – С. 40–41.
7. **Аганова, О.В.** Структура и динамика новых производных четвертичных фосфониевых солей по данным ЯМР спектроскопии [Текст] / О.В. Аганова, Л.Ф. Галиуллина, А.В. Аганов, В.В. Клочков // Сборник тезисов I Международной школы-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых "Биомедицина, материалы и технологии XXI века" [Электронный ресурс] / отв. ред. А.В. Герасимов. – Казань. Изд-во Казан. ун-та, 2015. – С. 14.
8. Klochkov, V.V. Biomolecular high-resolution NMR spectroscopy in Institute of Physics KFU [Text] / V.V. Klochkov, K.S. Usachev, L.F. Galiullina, S.V. Efimov, D.S. Blokhin, **O.V. Aganova**, I.Z. Rakhmatullin, A.R. Yulmetov, A.V. Aganov // International symposium "Magnetic resonance: from fundamental research to practical application": Book of abstracts – Kazan, 2016. – P. 94–95.
9. Галиуллина, Л.Ф. Исследование взаимодействия лекарственных средств с модельными мембранами методом ЯМР спектроскопии [Текст] / Л.Ф. Галиуллина, И.З. Рахматуллин, **О.В. Аганова**, Г.С. Мусабирова, И.А. Латфуллин, А.В. Аганов, В.В. Клочков // Структура и динамика молекулярных систем: сб. тезисов докладов и сообщений на XXIV Всероссийской конференции – Йошкар-Ола: ПГТУ, 2017. – 162 с. – С. 36.