

## ВІДГУК

### офіційного опонента

на дисертаційну роботу СТЕПАНЬЯНА Степана Григоровича  
«Молекулярна структура конформаційно лабільних біологічних сполук  
ізолюваних в низькотемпературних матрицях інертних газів»,  
подану на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук  
за спеціальністю 01.04.14 – теплофізика та молекулярна фізика

Сучасна молекулярна фізика, завдяки безупинному розширенню експериментальних та обчислювальних можливостей, переходить до розгляду все більш складних молекул і молекулярних систем. Поряд з широко досліджуваними макромолекулами та багатокомпонентними системами, що включають різноманітні наночастинки, значну увагу викликають також молекули з конформаційною рухливістю, тобто молекули, які в залежності від макроскопічного оточення та термодинамічних параметрів можуть приймати низку різних конформацій, що зумовлює відповідні прояви у властивостях відповідних конденсованих систем. З фізичної точки зору, якщо структурна деформація молекули потребує енергій порядку звичайних енергій міжмолекулярної взаємодії, можна розглядати поверхню потенційної енергії з багатьма локальними мінімумами, які відповідають різним конформаціям. Не кажучи вже про білки та нуклеїнові кислоти, навіть відносно невеликі молекули (типу амінокислот та коротких пептидів) також потребують врахування цих особливостей. Оскільки дослідження таких молекул в газовій фазі надто утруднене, перспективним виглядає їх дослідження в низькотемпературних матрицях інертних газів. При цьому виглядає досить інформативним поєднання спектроскопічних досліджень таких систем з розрахунковими квантово-механічними методами. Саме цьому і присвячена дисертація С.Г.Степаньяна, тема якої вельми актуальна і важлива як з фундаментально-наукової, так і з практичної точки зору. Не викликає сумнівів також її відповідність спеціальності «теплофізика і молекулярна фізика».

У вступній частині дисертації (анотація, вступ) дисертант чітко сформулював актуальність, мету і задачі роботи і дав короткий, але конкретний і змістовний виклад основних результатів, новизни та наукового і практичного значення роботи.

В першому розділі дано детальний і ґрунтовний аналіз сучасного стану експериментальних та теоретично-розрахункових досліджень конформаційної структури амінокислот та інших лабільних молекул. Показано труднощі та принципові обмеження досліджень в газовій фазі і обґрунтовано переваги використання матриць інертних газів, в яких розподілені молекули можна вважати практично ізольованими з можливістю чіткого відокремлення проявів взаємодії з матрицею і ефектів конформаційного розщеплення. З'ясовано, що достатньо докладна і надійна інформація з конформаційних станів є фактично тільки для двох найпростіших амінокислот – гліцину та аланіну. Також відкритим залишалося питання відповідності конформаційної структури амінокислот в низькотемпературних інертних матрицях з їх структурою у фрагментах пептидів. Визначено, що найбільш надійний шлях досліджень повинен базуватися на аналізі поверхні потенційної енергії (ППЕ), що дозволяє визначити повний набір конформерів досліджуваної молекули. Завершується перший розділ чіткими висновками з аналізу літератури, на основі яких сформульовано конкретні задачі роботи.

В другому розділі дисертації описано розвинутий автором комбінований експериментально-розрахунковий метод дослідження структури конформаційно лабільних молекул. В основі експериментів лежить використання унікальної установки, яка дозволяє переводити молекули досліджуваної речовини з газового стану (тут важливим є оптимізація температури випаровування) в матрицю твердої фази інертного газу з розподіленими в ній молекулами і вимірювання ІЧ-спектрів в цій матриці. Після попереднього визначення складу основних і мінорних конформацій змінювали конформаційний розподіл різними методами (температурний відпал, УФ-опромінювання, варіювання матриці тощо). Отримані дані використовували для тестування різних методів квантово-хімічних розрахунків. Розвинуто процедуру сканування багатовимірної поверхні потенційної енергії молекул, яка дає можливість встановлення



повного набору конформерів досліджуваних лабільних молекул. Цікавим є також вперше застосований для таких задач метод квантово-механічного моделювання макроскопічних фрагментів кристалів інертних газів з вбудованими молекулами.

Основним змістом третього розділу було з'ясування ролі внутрішньо-молекулярних водневих зв'язків на конформаційну структуру амінокислот в ізольованому стані. Важливість цього аспекту пов'язана з необхідністю порівняння з конформаціями амінокислотних фрагментів білків, в той час, як в конденсованому стані амінокислоти знаходяться в якісно іншій (цвіттеріонній) формі. Визначення можливих конформаційних станів проводилося, починаючи з амінокислот найпростішої будови (гліцин,  $\alpha$ -аланін), проводилося на основі аналізу багатовимірних поверхонь потенційної енергії (ППЕ), причому вельми ефективним виявився прийом поділу внутрішніх обертальних ступенів свободи на групи. Це дозволило звести задачу до розгляду набору двовимірних і тривимірних ППЕ. Треба відзначити високу узгодженість реально виміряних ІЧ-спектрів з розрахованими для найбільш стабільних конформерів

В четвертому розділі розвинуті автором підходи і методи було застосовано до аналізу структури амінокислот з більш складною конформаційною структурою. Для розширення можливостей інтерпретації ІЧ-спектрів було, зокрема, використано УФ-опромінювання зразків (яке призводить до зміни відносних заселеностей різних конформерів) та проведення вимірювань в різних матрицях. Як одну з найбільш лабільних амінокислот, було розглянуто лейцин, структура якого відзначається наявністю п'яти двограних кутів з відповідним взаємним обертанням структурних елементів молекули. Всього було виявлено 105 конформерів лейцину, з яких 28 було ідентифіковано вперше. Крім того, враховано можливість інтерконверсії між конформерами, розділеними низькими енергетичними бар'єрами. Цікавим виявилось те, що низькоенергетичні конформери зі значними заселеностями при температурі випаровування лейцину в матриці інертних газів переходять у більш стабільні конфігурації, і число конформерів, реально значимих для макроскопічних проявів, виявляється досить незначним. Окрім лейцину, детальний конформаційний аналіз було проведено також для  $\beta$ -аланіну та N-ацетилгліцину. Показано,

що, окрім УФ-опроміювання, зміна заселеностей компонентів може також відбуватися внаслідок температурного відпалу матриці. Треба особливо відзначити, що в цій роботі було вперше встановлено конформаційну структуру важливих біологічних сполук – лейцину,  $\beta$ -аланіну та N-ацетилгліцину.

В п'ятому розділі автор розглянув вплив можливої взаємодії розподілених молекул з атомами низькотемпературної матриці. Проблема тут полягає в тому, що спектральні прояви такої взаємодії («матричне розщеплення») часто збігаються з проявами конформаційного розщеплення, і необхідний був глибокий аналіз із застосуванням розрахункових методів. Треба відзначити, що автор, завдяки залученню можливостей міжнародного співробітництва, використав найсучасніші засоби квантово-механічних розрахунків як з точки зору hardware, так і software. Із низки використаних автором методів квантово-механічних розрахунків найкращі результати з точки зору узгодженості з експериментальними даними показав метод метабібридного функціоналу щільності M06-2X. Визначено оптимальний розмір «матричного сайту», який виявився істотно більшим за вирахований із співвідношення об'ємів вбудованих молекул та атомів матричних газів. При цьому відзначено також низку тонких деталей, зокрема, показано, що конформери N-ацетилгліцину з близьким об'ємом, але різною просторовою структурою, заміщають різну кількість атомів аргону при вбудовуванні в аргонову матрицю.

Нарешті, в шостому розділі розглянуто особливості похідних амінокислот, структура яких унеможливорює або суттєво обмежує утворення внутрішньомолекулярних водневих зв'язків. Це, зокрема, такі речовини, як цианооцтова кислота (CAA), метилціанооцтова кислота (MCA), а також піровиноградна кислота (PA), яка є проміжним продуктом метаболізму амінокислот. Розглянуто також особливості конформаційної поведінки молекул, структура яких дозволяє вільне внутрішньомолекулярне обертання, наприклад, амінометилфосфінова кислота (AMPA), яка є фосфор-аналогом найпростішої амінокислоти – гліцину. Тут основними особливостями є значно менша кількість реалізованих конформерів, а також більш істотний вплив матриці.



В додатку до основного тексту дисертації у вигляді низки докладних таблиць наведено дані по експериментальним та розрахованим ІЧ-спектрам. Ця частина роботи може слугувати корисним довідником для тих, хто буде проводити подальші дослідження подібних систем. .

Характеризуючи роботу в цілому, треба відзначити глибоке розуміння і творче застосування автором різноманітних експериментальних методів, з широким застосуванням оригінального обладнання, оптимально пристосованого до вирішення поставлених задач, а також вдале поєднання експериментальних підходів з числовими розрахунками, зокрема, із застосуванням квантово-механічних методів. Отримані результати є відтворюваними, вони добре узгоджуються як між собою, так і з теоретичними уявленнями молекулярної фізики, а також з результатами, отриманими іншими авторами на подібних системах. Це дозволяє вважати результати роботи вповні надійними і достовірними. Матеріал дисертації чітко і логічно викладений державною мовою, істотних зауважень до оформлення немає.

Не викликає сумнівів також і наукова новизна роботи.. Низку важливих результатів було отримано вперше, пріоритет автора чітко засвідчено в 23 публікаціях у високореєтингових фахових журналах. Результати роботи пройшли успішну апробацію на представницьких міжнародних наукових конференціях як в Україні, так і за кордоном, де вони завжди викликали значний інтерес колег і здобули високу оцінку світової наукової спільноти.

Певна річ, що така цікава і змістовна робота також викликає деякі питання і дає привід для низки зауважень.

1. Хоча автор підкреслює важливість УФ-опромінювання зразків як засобу спрямованої зміни заселеності різних конформерів в матрицях для більш коректної інтерпретації ІЧ-спектрів, в дисертації не наведено докладних відомостей про умови опромінювання (спектральний склад випромінювання використаного джерела, інтенсивність/енергетична освітленість, тривалість опромінювання, ступінь оборотності процесів тощо).

2. В роботі не приділено достатньої уваги порівнянню отриманих результатів з конформаційної структури досліджених амінокислот в низькотемпературних матрицях з наявними експериментальними даними з конформаційної структури відповідних фрагментів пептидів.

3. Описуючи та інтерпретуючи спектри, отримані для досліджених речовин в матрицях інертних газів, автор не звертає уваги на можливість істотної залежності вимірюваних спектрів від температури матриці (згадано лише про окремі якісні ефекти при «відпалюванні» матриці). Як відомо, зміна спектрів при певному розупорядкуванні матриці інертних газів при підвищенні температури і наближенні до температури плавлення матриці може давати істотну інформацію про тонкі особливості молекулярної будови та посилення міжмолекулярних взаємодій між розподіленими молекулами, чим в роботі було фактично знехтувано.

4. В розділі «Висновки», після чіткого формулювання важливої наукової проблеми, яку вирішує робота, та викладу основних висновків у вигляді суцільного абзацу, наведено низку пунктів, які починаються словом «вперше», і як раз повинні були б бути записані як пункти наукової новизни. В той же час формулювання в розділі «Наукова новизна отриманих результатів», хоча і вірні по суті, але, на мій погляд, викладені не зовсім чітко.

Ці зауваження, безумовно, не є істотними і не знижують загальну високу оцінку роботи.

Дисертація С.Г.Степаньяна виконана на високому науковому рівні, низку важливих результатів отримано вперше, сформульовані висновки є вповні обґрунтованими. Внесок цієї роботи в розвиток науки є значним як з точки зору фундаментальних питань молекулярної фізики, так і для потенційних практичних застосувань в низці напрямків оптики та спектроскопії, біохімії та біофізики. С.Г.Степаньян зарекомендував себе як відомий і авторитетний вчений і фахівець високого рівня в галузі молекулярної фізики з точки зору досліджень як конформаційно лабільних молекул, так і інших складних молекулярних систем.

Результати роботи можуть бути використані як в наукових установах, що займаються фундаментальними проблемами молекулярної фізики та



структурними дослідженнями біологічних молекул, так і в лабораторіях, що проводять конкретні розробки в галузі фармакології та медико-біологічні дослідження (зокрема, пов'язані з питаннями виникнення життя). Окремі результати можуть бути важливими і з точки зору подальшого розвитку квантово-хімічних методів та розрахунків складних систем методами молекулярної динаміки (Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України, м. Харків, відділення хімії функціональних матеріалів ДНУ НТК «Інститут монокристалів», м. Харків, Інститут фізики НАН України, м.Київ, Інститут біоколоїдної хімії НАН України, м. Київ, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна тощо).

Практичне значення дисертації полягає, зокрема, в тому, що отримані результати і розвинуті в роботі методи можуть бути застосовані для широкого кола біологічних молекул. Зокрема, встановлена в роботі істотна різниця в конформаційній лабільності  $\alpha$ - і  $\beta$ -аланіну дозволяє підвищити стабільність фармпрепаратів на основі пептидних антибіотиків до дії ферментів, що є вельми важливим з точки зору фармакології. Дуже цікавою є можливість застосування аналізу характерних смуг ІЧ-поглинання для виявлення амінокислот та інших біологічних сполук в космічному просторі (зокрема, в астероїдах і метеоритах). Можна також передбачити створення в майбутньому нових наноматеріалів на основі речовин з конформаційно рухливими молекулами.

Дисертація Степаньяна С.Г. «Молекулярна структура конформаційно лабільних біологічних сполук, ізольованих в низькотемпературних матрицях інертних газів», подана на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук за спеціальністю 01.04.14 – теплофізика і молекулярна фізика, повністю відповідає паспорту спеціальності. Вона є завершеною самостійною науково-дослідною роботою, в якій вперше отримані нові науково обґрунтовані результати, які в сукупності вирішують конкретну важливу і актуальну задачу сучасної молекулярної фізики – визначення зв'язку між молекулярною структурою конформаційно лабільних біологічних молекул (зокрема, амінокислот та їх похідних) та їх термодинамічними і спектральними характеристиками.

Автореферат адекватно відображає зміст дисертації, ознак плагіату не виявлено, Результати, за якими було захищено кандидатську дисертацію, не входять до представленої дисертаційної роботи.. Дисертація повністю задовольняє вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Кабінетом Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, із змінами, внесеними згідно із Постановами КМ № 40 від 12.01.2017 р., які висуваються до оформлення докторських дисертацій, а її автор – Степаньян Степан Григорович – безумовно, заслуговує на присудження йому наукового ступеня доктора фізико-математичних наук за спеціальністю 01.04.14 – теплофізика і молекулярна фізика.

Офіційний опонент

доктор фізико-математичних наук,  
професор,  
провідний науковий співробітник  
відділу наноструктурних матеріалів  
Інституту сцинтиляційних  
матеріалів НАН України

Л.М.Лисецький

Підпис Л.М.Лисецького засвідчую:

Учений секретар ІСМА НАН України  
к.т.н.



Ю.М.Дацько