

## **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

Однією з найбільш цікавих галузей сучасної молекулярної фізики є дослідження структури молекул, що володіють високою конформаційною лабільністю. Зміни структури таких молекул можуть відбуватися під впливом навіть слабких міжмолекулярних взаємодій, енергія яких порівнянна з енергією, необхідною для зміни конформацій цих молекул. Це висуває особливі вимоги до експериментальних і теоретичних методів дослідження структури конформаційно лабільних молекул, які мають складну поверхню потенційної енергії з множинними мінімумами і, як правило, із невеликими величинами енергетичних бар'єрів, які ці мінімуми розділяють. У дисертаційній роботі Степаньяна С.Г. використано метод ізоляції молекул у низькотемпературних матрицях (кристалах) інертних газів. При цьому інертність матричного оточення дозволяє отримувати інформацію безпосередньо про конформаційну структуру самих молекул.

**Актуальність** досліджень у цій області визначається тим, що більшість біологічних молекул мають високу конформаційну лабільність. Це відноситься не тільки до біополімерів, а й до відносно невеликих молекул, таких як амінокислоти, які є одними з найбільш важливих біомолекул. Низька термічна стабільність амінокислот надзвичайно ускладнює їх дослідження в газовій фазі. У такій ситуації особливості методу матричної ізоляції дозволяють подолати цю проблему. При цьому одночасне використання методів квантово-механічних розрахунків, які проводяться для одиночних молекул, є дуже ефективним. Тема дисертації С.Г.Степаньяна, яка присвячена встановленню залежності між молекулярною структурою конформаційно лабільних біологічних молекул, зокрема, амінокислот та їх похідних, та їх енергетичними й ІЧ спектральними характеристиками є

важливою й актуальною як з фундаментальної, так і з практичної точки зору. **Відповідність теми** дисертації спеціальності «теплофізика і молекулярна фізика» не викликає сумнівів.

Дисертація складається із шести розділів, висновків, та списку використаних джерел, переліку праць здобувача та двох додатків, а також анотацій українською та англійською мовою.

У **вступній частині** дисертації (анотація та вступ) чітко сформульовано актуальність, мету і задачі дослідження. Також змістовно викладені основні результати, новизна та наукове й практичне значення роботи.

В **першому** розділі дано детальний аналіз сучасного стану експериментальних та розрахункових досліджень молекулярної структури конформаційно-лабільних молекул (амінокислот та їх похідних). Автором проаналізовані можливості та обмеження методів, які використовувались у цих дослідженнях, та зазначено, що дані про структуру амінокислот і їх похідних в ізольованому стані, були вкрай нечисленні. Це пояснюється двома причинами. По-перше, це термічна нестабільність амінокислот, яка утруднює їх переведення у газову фазу, і, по-друге, це висока конформаційна лабільність амінокислот, яка значно ускладнює аналіз результатів експериментальних досліджень. Автором зроблено висновок про те, що найбільш детальну інформацію про структуру амінокислот можливо отримати при використанні методу низькотемпературної ІЧ-спектроскопії у матрицях інертних газів. Також показана надзвичайна ефективність поєднання експериментального методу матричної ізоляції та неемпіричних квантово-механічних розрахунків. Наприкінці розділу автором сформульовано висновки з аналізу літератури та конкретні задачі роботи.

**Другий** розділ присвячено детальному опису експериментальних та розрахункових методик, які використані у дисертаційній роботі. Особливу увагу приділено спільному використанню експериментального методу матричної ізоляції та різних методів квантово-механічних розрахунків на всіх етапах дослідження. Автором переконливо показано, що така комбінація експерименту і розрахунків дозволяє отримувати більш детальну інформацію про структуру молекул та істотно підвищує надійність одержуваних результатів. Також відзначено, що для отримання детальної інформації про

структуру конформаційно лабільних молекул необхідна реєстрація ІЧ-спектрів зразків з різною заселеністю конформерів у матриці. Наведено опис методів, які дозволяють змінювати заселеність. Це термічний відпал матриць, який призводить у багатьох випадках до інтерконверсії конформерів, УФ опромінення матриць та варіювання температури випаровування сполук. Також пояснено необхідність використання підходів, які дозволяють змінювати спектральні характеристики зразків (використання ізотопозаміщених сполук або використання різних матричних газів). Представлені результати тестування точності різних методів квантово-механічних розрахунків. Зокрема відмічено, що сучасні методи дозволяють отримувати дані про структуру та відносні стабільності різних конфігурацій молекул із точністю, яка порівняна з точністю експериментальних вимірювань. Далі описано процедуру вичерпного сканування багатовимірної поверхні потенційної енергії молекул, яка дозволяє встановити повний набір конформерів лабільних молекул. Також наведено детальний опис методики квантово-механічного моделювання великих фрагментів кристалів інертних газів із вбудованими молекулами, що досліджуються.

У третьому розділі представлені результати дослідження структури найпростіших амінокислот. Встановлені загальні залежності між структурою конформерів та їх ІЧ-спектральними характеристиками. Ізольовані молекули амінокислот включають протондонорні та протоноакцепторні групи і, таким чином, здатні утворювати різні внутрішньомолекулярні водневі зв'язки, які в значній мірі і визначають їх конформаційну структуру. У зв'язку з цим використання методу ІЧ-спектроскопії є досить ефективним, так як ІЧ-спектри надзвичайно чутливі до утворення водневих зв'язків. Слід відзначити, що водневі зв'язки відіграють визначальну роль у більшості процесів функціонування біомолекул. У зв'язку з цим особливу увагу автором було приділено впливу водневих зв'язків на структуру амінокислот, а також їх спектральним проявам. Важливим результатом є встановлена автором відповідність конформерів молекулярної форми амінокислот структурі амінокислотних фрагментів пептидів. Зокрема на зразку амінокислоти проліну показано, що в залежності від міста розташування амінокислотних фрагментів у пептидному ланцюжку вони є структурними аналогами різних конформерів. Присутність у структурі конформерів

водневих зв'язків істотно підсилює ангармонізм коливань тих структурних груп, які безпосередньо беруть участь в утворенні цих водневих зв'язків. Це визначає необхідність врахування ангармонізму при моделюванні ІЧ-спектрів конформерів. На прикладі гліцину показано, що запропонований автором метод змінної G-матриці дозволяє розраховувати ангармонійні частоти коливань з високою точністю. Також зазначено, що в отриманих ІЧ-спектрах спостерігається розщеплення деяких смуг коливань, яке не може бути пояснено присутністю різних конформерів, а також резонансом Фермі. Показано, що це є проявом так званого матричного розщеплення, яке викликане існуванням різних способів вбудовування досліджуваних молекул у кристал інертного газу.

У четвертому розділі розглянуто низку амінокислот, які мають значно складнішу конформаційну структуру, дослідження якої потребує використання додаткових експериментальних підходів. Для визначення структури таких об'єктів (амінокислоти лейцин і  $\beta$ -аланін, а також найпростіший пептид N-ацетилгліцин) автором на додаток до методів, які використовувались у попередньому розділі, були також застосовані УФ опромінення зразків і проведення вимірювань в різних матрицях. Використання УФ-опромінення і температурного відпалу матриць дозволило змінювати заселеності конформерів у зразках. Зроблено висновок про те, що врахування інтерконверсії між конформерами, розділеними низькими енергетичними бар'єрами, є критично важливим для визначення конформаційного складу лабільних молекулярних систем. Зокрема, автором показано, що більшість низькоенергетичних конформерів, що мають значні заселеності при експериментальній температурі випаровування, в дійсності, при попаданні в матриці інертних газів, переходять у більш стабільні конфігурації. В результаті цього тільки невелике число конформерів амінокислоти лейцин спостерігається в експерименті. Показано, що в результаті такого конформаційного охолодження заселеності конформерів у газовій фазі та в матрицях істотно відрізняються.

П'ятий розділ присвячено вивченню впливу матричного оточення на структуру та ІЧ-спектри ізольованих молекул. Слід відзначити, що систематичне моделювання матричних ефектів до теперішнього часу не проводилося. Враховуючи це, автором була досліджена принципова

можливість врахування впливу матриць інертних газів на структуру і коливальні спектри ізолюваних молекул. Автором визначено розмір і форму матричних сайтів, а також з'ясовано як змінюється структура самої молекули при ізоляції її у матриці. Показано, що визначення оптимального розміру матричного сайту може бути зроблено на підставі аналізу розрахованих для різних кластерів енергій деформації матричного оточення. Встановлено, що співвідношення об'єму вбудованої в матрицю молекули та об'єму атомів матричних газів дозволяє визначити лише мінімально можливий розмір матричного сайту. Показано, що розмір сайту визначається також формою молекули, що вбудовується. Зокрема, встановлено, що конформери N-ацетилгліцину, які мають приблизно однаковий об'єм, але різну просторову структуру, при вбудовуванні в аргоніву матрицю заміщають різну кількість атомів аргону. Взагалі, на погляд опонента, п'ятий розділ є найважливішим для розуміння того високого наукового рівня, якого досяг Степан Григорович.

Заключний, **шостий**, розділ присвячено дослідженню похідних амінокислот, структура яких обмежує утворення внутрішньомолекулярних водневих зв'язків. Автором показано, що для таких молекул взаємодія з матрицею призводить до якісної зміни конформаційного складу у порівнянні з газовою фазою. Прикладом таких змін може бути фіксація в матрицях конформерів цианооцтової кислоти, які не існують у газовій фазі. Встановлення причин, які призводять до таких змін структури, є важливим тому що така інформація дозволяє розділити особливості структури, які притаманні безпосередньо молекулам, що досліджуються, та зміни структури за рахунок міжмолекулярних взаємодій.

Серед найважливіших результатів дисертації слід виокремити наступні:

- Визначено повний набір конформерів молекулярних форм низки аліфатичних амінокислот та визначені заселеності їх конформерів.
- Встановлена відповідність конформерів молекулярної форми амінокислот структурі амінокислотних фрагментів пептидів. Так, для амінокислоти проліну показано, що, в залежності від міста розташування амінокислотних фрагментів у пептидах, вони є структурними аналогами різних конформерів.

- Вперше з'ясовано механізм впливу конформаційного охолодження у матрицях на суттєву різницю між конформаційним складом амінокислот у газовій фазі та у матрицях інертних газів.

Підсумовуючи оцінку дисертації, можна виокремити декілька елементів, що складають **наукову новизну дисертаційної роботи**: Одержані експериментальні та розрахункові результати пояснюють вплив водневих зв'язків на конформаційну структуру та спектральні характеристики важливішого класу сполук – амінокислот та їх похідних. Встановлено залежність між молекулярною структурою та енергетичними й ІЧ спектральними характеристиками конформаційно лабільних біологічних молекул.

**Достовірність та обґрунтованість** основних наукових положень і висновків роботи ґрунтується на тому, що у представленій роботі було поєднано експериментальний метод низькотемпературної ІЧ-спектроскопії у матрицях інертних газів та низку сучасних квантово-механічних методів моделювання. Висновки на основі відповідних даних доповнюють один одного, тим самим збільшуючи достовірність отриманої структурної інформації стосовно об'єктів дослідження. Отримані автором результати дослідження структури амінокислот були повністю підтверджені іншими авторами в подальших дослідженнях, виконаних із використанням інших експериментальних методів.

За результатами дисертаційної роботи опубліковано 23 статті у високореєтингових наукових фахових журналах. Окремі частини роботи неодноразово представлялися на міжнародних конференціях та семінарах, присвячених дослідженню молекулярної структури спектральними та розрахунковими методами.

**Практичне значення** дисертації полягає в тому, що отримана інформація про ІЧ-спекральні характеристики різних конформерів амінокислот може бути використана в спектральних дослідженнях як окремих біологічних молекул, в тому числі коротких пептидів, так і в дослідженнях міжмолекулярних комплексів амінокислот. Встановлені характеристичні смуги ІЧ-поглинання можуть бути використані для виявлення амінокислот в космічному просторі. Отримані ІЧ-спекральні дані

амінокислоти гліцин та її дейтеропохідних вже були використані при розробці та тестуванні сучасних методів моделювання коливальних спектрів. Слід особливо відзначити, що отримані автором дані про конформаційний склад амінокислот у матрицях інертних газів стимулювала їх активні дослідження іншими методами, такими як мікрохвильова спектроскопія, спектроскопія надзвукових кластерів та електронографія. Продемонстрована більш висока конформаційна лабільність  $\beta$ -аланіну (у порівнянні з  $\alpha$ -аланіном) свідчить про потенційну більш високу стійкість пептидних антибіотиків на основі  $\beta$ -аланіну до дії ферментів та дозволяє отримувати більш ефективні антибіотики нового класу для використання у медицині.

Певна річ, що така велика й змістовна робота дає привід для низки зауважень:

- Автором використано УФ опромінювання зразків як ефективний метод зміни заселеності конформерів у матриці. Однак детальні механізми зміни конформаційної структури під впливом УФ опромінення не встановлені.
- ІЧ спектри були отримані для молекул, ізольованих у різних матрицях. При цьому причини відмінностей величин матричних зсувів при використанні різних інертних газів не пояснені.
- У другій главі детально описано експериментальну методичну частину, проте, у кожній з наступних глав, в яких описуються результати досліджень, є одна або більше методичних частин. Це призвело до повторів в описі приготування зразків і самого методу вимірювання. Те ж саме стосується методики проведення розрахунків.

Вищенаведені зауваження не є істотними і жодним чином не впливають на важливість отриманих у дисертаційній роботі С.Г.Степаньяна результатів і не знижують її наукової цінності. Його дисертація є завершеною самостійною науково-дослідницькою працею, в якій отримано багато нових результатів у важливій області молекулярної фізики.

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. Результати, за якими було захищено кандидатську дисертацію, не входять до представленої дисертаційної роботи. Автореферат адекватно відображає зміст дисертації, ознак плагіату не виявлено,

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  
член-кореспондент НАН України,  
доктор фізико-математичних наук, професор,  
завідувач відділу теорії квантових процесів у наносистемах  
Інституту теоретичної фізики  
імені М.М. Боголюбова НАН України,

Е.Г.Петров

Підпис Е.Г.Петрова засвідчую:

Учений секретар ІТФ імені М.М. Боголюбова  
НАН України

