

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Ларионова Радика Анатольевича «Термические и супрамолекулярные свойства олигопептидов: Gly-Gly, Ile-Ala, Ala-Ile, Leu-Val, Leu-Phe, Phe-Leu, Leu-Leu-Leu», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4.

Физическая химия

Диссертационная работа Ларионова Р.А. посвящена исследованию термических и супрамолекулярных свойств линейных и циклических олигопептидов. При этом основное внимание уделяется термически инициируемым химическим реакциям в твердой фазе с участием дипептидов, а также изучению процессов самосборки исходных соединений и продуктов реакции циклизации в различных условиях.

Актуальность работы

Короткоцепные олигопептиды в настоящее время активно используются при решении ряда технологических задач благодаря их способности к образованию биосовместимых материалов за счет молекулярной самосборки. Популярным методом получения упорядоченных микро- и наноструктур на их основе является термическая обработка порошков или пленок олигопептидов. Вместе с тем, в результате нагревания олигопептидов до некоторых критических температур возможна не только их самоорганизация, но и химическое превращение с образованием циклических молекулы, свойства которых отличаются от линейных аналогов. Вследствие этого, использование термического метода для получения олигопептидных наноструктур весьма ограничено из-за отсутствия информации о температурах начала реакции циклизации в твердой фазе.

С другой стороны, следует отметить, что изучение термических свойств олигопептидов позволит продвинуться в решении задачи по разработке подходов к синтезу циклических дипептидов из линейных. Сами по себе циклические дипептиды, также представляют интерес для

исследователей, поскольку обладают биологической активностью и представляют интерес для медицинских приложений. С этой точки зрения, твердофазный синтез может стать альтернативным методом получения циклических дипептидов, позволяющим избежать применения многостадийных процессов, осложненных побочными реакциями, и необходимости очистки конечного продукта и применения растворителей. Однако, несмотря на перспективность этого метода, в литературе твердофазный синтез остается малоизученным.

Хорошо известна способность олигопептидов в результате кристаллизации из растворов образовывать пористые кристаллы. Такие кристаллы, отличающиеся размером пор в зависимости от аминокислотного состава олигопептидов, используются для разделения смесей газов. В литературе для них используется термин биоцеолиты, хотя, как было обнаружено совсем недавно, некоторые из таких кристаллов проявляют особые сорбционные свойства, которые на сегодняшний день остаются практически неизученными. В этой связи, диссертационная работа Ларионова Р.А. является актуальной и направленной на решение проблем современной физической химии.

Диссертационная работа демонстрирует научную новизну, поскольку автором впервые были экспериментально изучены термические свойства ряда короткоцепных олигопептидов. Обнаружено, что в результате нагрева линейных дипептидов, изученных в работе, происходит их циклизация в твердой фазе с образованием производных 2,5-дикетопиперазина. Автором для рассмотренных в работе дипептидов с алифатическими боковыми группами была обнаружена общая тенденция, связывающая температуру начала реакции их циклизации с показателем молекулярной рефракции боковых заместителей в составе молекул дипептидов. Используя данные кинетического анализа, с привлечением методов изоконверсионной кинетики были определены кинетические параметры реакций, установлено, что такие процессы описываются автокаталитическими уравнениями. Также была

обнаружена взаимосвязь между значениями энергии активации реакций циклизации и строением дипептида.

На основе данных, полученных при изучении плёнок и кристаллов дипептидов методом ИК-Фурье анализа, соискатель сделал предположение о том, что при циклизации кристаллического дипептида в качестве лимитирующей стадии может выступать переход из цвиттер-ионной формы в молекулярную.

С помощью атомно-силовой микроскопии продемонстрировано различие в способности линейных и циклических дипептидов к самосборке с образованием упорядоченных структур. Установлено, циклические молекулы весьма чувствительны к типу используемого растворителя и формируют различные микро- и наноструктуры. В то время как линейные дипептиды в изученных системах образуют аморфную пленку. Визуализировано влияние термической обработки на морфологию поверхности пленок ряда дипептидов. Обнаружена способность к люминесценции структур на основе цикло(фенилаланил-лейцила).

При изучении продуктов насыщения лейцил-лейцил-лейцина парами органических растворителей с использованием метода термического анализа было установлено, что этот олигопептид способен «запоминать» ранее связанный бензол. Эффект «памяти» трипептида проявляется в виде последовательных тепловых эффектов на ДСК кривой после ухода связанного «гостя».

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в следующих аспектах:

Разработка твердофазного способа получения циклических дипептидов, из линейных аналогов при воздействии термической обработки. Определенные, в ходе настоящего исследования, значения кинетических параметров, кинетическая модель, а также детали механизма циклизации помогут продвинуться в масштабировании подобных реакций.

Выявленные соискателем закономерности результатов самосборки линейных и циклических дипептидов имеют практическую значимость для разработки подходов получения упорядоченных структур на их основе. Подобные структуры обладают практически значимыми свойствами, что было продемонстрировано на примере люминесцентных свойств структур на основе цикло(фенилаланил-лейцила).

Обнаруженная способность трипептида на основе лейцина к «запоминанию» ранее связанного бензола может быть использована для количественной оценки его содержания в смесях с другими органическими соединениями. Соискателем было установлено, что природа «памяти» олигопептида по отношению к бензолу обусловлена полиморфными переходами трипептида, инициированными взаимодействием с парами растворителя.

Диссертационная работа построена классически и состоит из трёх глав, введения, заключения, списка сокращений, списка использованных источников, содержащего 156 ссылок, и приложения. Диссертация занимает 145 страниц и включает 12 таблиц и 75 рисунков.

Личный вклад автора заключается в получении и обработке экспериментальных данных, представленных в работе, анализе литературных источников, анализе и обобщении полученных результатов, подготовке материалов к публикации.

Достоверность полученных в работе результатов не вызывает сомнений и обусловлена использованием современного научного оборудования и методов исследования. Кроме того, достоверность данных и их интерпретация подтверждается публикациями в достаточном числе рецензируемых журналов и представлением на российских и международных конференциях. Результаты работы полностью отражены в 6 публикациях в российских и международных рецензируемых изданиях и 9 конференциях различного уровня.

Результаты диссертационной работы имеют **практическую значимость** для оптимизации методов синтеза циклических олигопептидов с высоким выходом, а также для разработки новых сенсорных элементов.

Работа не имеет существенных недостатков. Тем не менее, по работе могут быть сделаны некоторые замечания и заданы вопросы, которые, возможно, определяют новые направления исследований.

1. Основной целью работы названа разработка подходов к получению циклических дипептидов из их линейных аналогов в твердой фазе. Хотелось бы уточнить в чём именно новизна разрабатываемого автором подхода к твёрдофазному синтезу циклических дипептидов, если этот процесс уже изучался в работах других исследователей, например, ссылка [65]?
2. В качестве одного из выводов работы и характеристик её научной новизны фигурирует выражение «Впервые выдвинуто предположение о том, что лимитирующей стадией циклизации дипептидов в кристаллической фазе является переход от цвиттер-ионной к молекулярной форме». Автор не считает это предположение доказанным?

Здесь интереснее представляется обратить внимание не на саму лимитирующую стадию, а на повышение скорости превращения нейтральной формы в циклическую в кристаллах по сравнению с аморфной системой. По-видимому, это связано с удобной предорганизацией молекул в кристалле.

3. На стр. 84 из того факта, что ИК-спектры продуктов нагревания **Leu-Phe** и **Phe-Leu** практически идентичны, автор делает вывод об образовании при циклизации этих дипептидов одного и того же продукта. Однако по данным ЯМР различия всё же были и здесь стоило бы это упомянуть и обосновать тот факт, что они не проявляются на ИК-спектрах.

4. Далее на стр. 84 автор пишет, что для изучения влияния состояния пленок дипептидов Leu-Phe и Phe-Leu на процесс циклизации были приготовлены аморфные пленки и «пленки с кристаллами». При этом не указывается, какая доля материала оказывалась в кристаллической форме? Одинакова ли степень кристаллизации для разных дипептидов? Неясно также, можно ли на спектрах выделить следы остаточной аморфной фазы?
5. При обсуждении результатов, полученных с помощью спектроскопии кругового дихроизма автор характеризует кривую для *цикло*(Leu-Phe) наличием максимума при 193 нм, однако при этом он не замечает, что пик максимума для этого циклопептида гораздо шире, чем для *цикло*(Phe-Leu), и содержит в том числе и компоненту с длиной волны 194 нм, что как раз может служить признаком сосуществования разных форм циклопептида.
6. На рис. 63 наглядно продемонстрированы различия морфологии плёнок, формирующихся в различных условиях. Однако в выводах констатируется только сам факт влияния условий на морфологию, а что это означает для практики остаётся «за кадром»: для чего нужны такие визуально различные структуры? чем отличаются их физико-химические свойства?
7. Из того факта, что полученный в работе дипептид обладает люминесцентными свойствами, с максимум излучения в видимой области спектра, автор делает вывод о том, что это открывает возможности его применения в биомедицинских исследованиях и при создании светоизлучающих устройств (стр. 112). Однако, одного наличия люминесценции маловато для таких применений и хотелось бы понять природу этой люминесценции и причины её отсутствия у линейных аналогов - это позволило бы управлять люминесцентными характеристиками и более весомо обосновать возможности применения.

8. В порядке предложения по направлениям дальнейших исследований: нельзя ли использовать УФ-облучение для инициализации реакции циклизации при более низких температурах?

В работе встречаются опечатки и несогласованные выражения, однако их количество значительно «ниже среднего», что делает честь диссертанту.

Таким образом, диссертационная работа Ларионова Радика Анатольевича «Термические и супрамолекулярные свойства олигопептидов: Gly-Gly, Ile-Ala, Ala-Ile, Leu-Val, Leu-Phe, Phe-Leu, Leu-Leu-Leu», по актуальности поставленной цели и решаемых задач, научной новизне, теоретической и практической значимости, а также достоверности полученных результатов соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. в действующей редакции, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, а ее автор, Ларионов Радик Анатольевич, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия.

Отзыв официального оппонента подготовила:
доцент, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией физической химии супрамолекулярных систем (Научное направление "Физикохимия нано- и супрамолекулярных систем") федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук»
доктор химических наук (02.00.04 Физическая химия)
Селектор София Львовна

Адрес: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 31, корпус 4
Телефон: 8-495-955-44-08

11.04.2024

Подпись Селектор С.Л. заверяю,
Ученый секретарь ИФХЭ РАН,
к.х.н.

Варшавская И.Г.