

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01,

созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук,
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 9 октября 2019 г. № 12

О присуждении **Балеевой Надежде Сергеевне**, гражданке РФ, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Синтез и свойства флуоресцентных красителей на основе аналогов хромофора CFP» по специальности 02.00.10 – «биоорганическая химия» принята к защите 19.06.2019 г. (протокол № 9) диссертационным советом Д 002.019.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) (ул. Миклухо-Маклая, 16/10, ГСП-7, Москва, 117997, Приказ Минобрнауки России №75/нк от 15.02.2013).

Соискатель Балеева Надежда Сергеевна 03.08.1989 года рождения. В 2011 году соискатель окончила ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет» по специальности «Химия». В 2014 году Балеева Н.С. окончила аспирантуру ИБХ РАН. В настоящее время работает младшим научным сотрудником группы химии гетероциклических соединений отдела биомолекулярной химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в группе химии гетероциклических соединений отдела биомолекулярной химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель - кандидат химических наук Баранов Михаил Сергеевич, старший научный сотрудник, руководитель группы химии гетероциклических соединений отдела биомолекулярной химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Вацадзе Сергей Зурабович, доктор химических наук, профессор кафедры органической химии химического факультета Федерального государственного

бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»;

Тараканов Павел Александрович, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории фталоцианинов и их аналогов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологически активных веществ Российской академии наук

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук, г. Москва (ИОХ РАН), в своем положительном заключении, подписанном кандидатом химических наук Князевой Екатериной Александровной, старшим научным сотрудником лаборатории №31 ИОХ РАН, и утвержденном ученым секретарем ИОХ РАН, кандидатом химических наук Коршевец Ириной Константиновной, отметила, что диссертационная работа Балеевой Н.С. представляет собой завершённую научно-квалификационную работу и соответствует требованиям "Положения о присуждении учёных степеней", утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), предъявляемым к диссертационным работам на соискание учёной степени кандидата наук, а автор работы Балеева Надежда Сергеевна заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 - Биоорганическая химия.

Соискатель имеет 31 опубликованную работу, в том числе по теме диссертации 8 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, входящих в базы данных Web of Science и Scopus, объемом 5 печатных листов. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные работы по теме диссертации, в которые Балеева Н.С. внесла основной или существенный вклад:

1. Baleeva N.S., Myannik K.A., Yampolsky I.V., Baranov M.S. Bioinspired Fluorescent Dyes Based on a Conformationally Locked Chromophore of the Fluorescent Protein Kaede // *Eur. J. Org. Chem.* 2015, Т. 2015. № 26. С. 5716-5721.

2. Golodukhina S.V., Baleeva N.S., Mineyev K.S., Baranov M.S. Reversible condensation of 4-arylidene-1,2-dimethyl-1H-imidazol-5(4H)-ones with aromatic acyl chlorides // *Chem. Het. Comp.* 2015, Т. 51. № 10. С. 944-947.

3. Baleeva N.S., Tsarkova A.S., Baranov M.S. Conformationally locked chromophores of CFP and Sirius protein // *Tetrahedron Lett.* 2016. Т. 57. № 27-28. С. 3043-3045.

4. Балеева Н.С., Ямпольский И.В., Баранов М.С. Борированные производные хромофора зеленого флуоресцентного белка как потенциальные флуоресцентные сенсоры // *Биоорг. хим.* 2016. Т. 42. № 4. С. 501-504.

5. Seth O., Baranov M.S., Baleeva N.S., Antonova M.M, Johnson K.A., Solntsev K.M. pH-Sensitive fluorophores from locked GFP chromophores by a non-alternant analogue of the photochemical meta effect // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. Т. 18. С. 26703-26711.

6. Балеева Н.С., Баранов М.С. Реакция Соногашеры как новый метод модификации борированных производных хромофора зеленого флуоресцентного белка // Биоорг. хим. 2017. Т. 43. № 5. С. 581-584.

7. Baleeva N.S., Zaitseva S.O., Gorbachev D.A., Zagudaylova M.B., Baranov M.S. The role of N-substituents in radiationless deactivation of aminated derivatives of locked GFP chromophore // Eur. J. Org. Chem. 2017. T. 2017. № 35. С. 5219-5224.

8. Baleeva N.S., Zaitseva S.O., Mineev K.S., Khavroshechkina A.V., Zagudaylova M.B., Baranov M.S. Enamine–azide [2+3]-cycloaddition as a method to introduce functional groups into fluorescent dyes // Tetrahedron Lett. 2019. T. 60. № 5. С. 456-459.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Отзыв официального оппонента к.х.н. Тараканова П.А. Отзыв положительный, содержит следующие замечания и вопросы:

1) По содержанию замечание касается не полного раскрытия автором связи оптических свойств со структурой исследуемых красителей в части механизмов диссипации возбужденных состояний органических молекул в конденсированной фазе. Без базового введения читателя в понимание механизмов безызлучательной релаксации невозможно систематически анализировать зависимость тушения квантового выхода флуоресценции от структурных изменений рассматриваемых флуорофоров. Из-за этого автором были допущены в литературном обзоре такие фразы, как «...величина батохромного сдвига максимумов абсорбции и эмиссии относительно оригинального родамина увеличивается в ряду сера-селен-теллур. Однако оказалось, что квантовый выход в этой же последовательности резко снижается,...». Словосочетание «Однако оказалось» здесь неуместно, поскольку подразумевает неизвестность в литературе эффекта тяжелого атома, вызывающего усиление спинорбитального взаимодействия и, как следствие, увеличение кинетики безызлучательной диссипации синглетного возбужденного состояния в триплетное возбужденное состояние. Далее в обсуждении результатов автор довольно легко оперирует понятиями состояния с высокой степенью перераспределения заряда в молекуле (ICT – англ. сокр.), разделяя их на планарные (PICT – Planar Intramolecular Charge Transfer) и скрученные (TICT – Twisted Intramolecular Charge Transfer). В литературном обзоре при этом ни о возбужденных состояниях с переносом электронной плотности, ни об их типах и их возможных механизмах диссипации ничего не сказано. Это обстоятельство затрудняет понимание логики автора при его анализе влияния структурных изменений исследуемых флуорофоров на их фотофизические свойства. 2) Стр. 89. Чем объясняется выбор именно алкильного спейсера при исключении влияния триазольного цикла на основной хромофор? Учитывал ли автор конформационную подвижность данного типа спейсера? 3) Стр. 98. Насколько оправдано применение данных флуорофоров для биологических систем, учитывая большую загруженность этой области спектра другими хромо- и флуорофорами? 4) Стр. 105. С чем связано несоответствие количества сигналов в 13С

ЯМР спектре количеству неравнозначных согласно симметрии молекулы атомов углерода в структуре соединений 2.1.3a и 2.1.3b? 5) Стр. 117. Чем объясняется отсутствие для соединения 2.2.7a масс и ^{13}C ЯМР спектров (^1H , ^{13}C ЯМР и HRMS)? Тот же вопрос касается соединений 2.2.9a,b стр. 122. 6) среди физико-химических методов анализа используется масс-спектрометрия высокого разрешения, однако, среди мало отличающихся в серии соединений встречаются масс-спектры с существенным отклонением уже во втором знаке после запятой. Можно ли в тех случаях масс-спектры называть спектрами высокого разрешения и с чем связано такое отличие спектров этих соединений от остальной серии структур? 7) В диссертации также присутствует ряд неудачных выражений и ошибки, напрямую или косвенно связанные с опечатками.

2. Отзыв официального оппонента д.х.н. Вацадзе С.З. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1) введение и постановка задачи: можно было бы добавить информацию про методологию и методы исследования; 2) обсуждение результатов: стр. 54 – «подобное поведение...объясняется образованием координационной связи между атомами азота и бора» - следовало бы пошире и поподробнее обсудить этот вопрос; 3) обсуждение результатов: с фотолабильными соединениями типа 2.1.9. можно попытаться работать в затемненном помещении; 4) обсуждение результатов: стр. 73 – сомневаюсь, что атом водорода может обладать «более слабым электронно-донорным эффектом» – он, вообще, как заместитель, не обладает никакими эффектами, так как с ним сравнивают все остальные заместители; 5) обсуждение результатов/экспериментальная часть: региохимия продуктов [3+2]-циклоприсоединения не обсуждается и не доказана; 6) рекомендации: было бы удобнее для читателя, если бы квантовые выходы во всей работе были приведены в одном стиле – либо в %, либо в долях от 1; 7) «получены при воздействии трибромида бора» – имеет смысл добавить «с последующей обработкой фтористым водородом»; 8) В работе присутствует ряд редакторских или стилистических ошибок.

3. Отзыв ведущей организации. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1) При конденсации имидазолна 2.1.4 с ароматическими хлорангидами и альдегидами был использован основной катализ. Однако выше было замечено, что для подобных соединений ранее использовался катализ кислотами Льюиса. Чем обусловлен переход к органическим основаниям в качестве катализаторов и как осуществлялся выбор конкретного основания для отдельных субстратов? 2) При описании аналогов хромофора белка Kaede было выдвинуто предположение о том, что введение электронодонорных групп в бензилиденую часть молекулы приводит к длинноволновому сдвигу. Будет ли еще более выраженным сдвиг при введении

электроноакцепторных заместителей в бензольное кольцо, конденсированное с имидазолоном, или при конденсации имидазолана с электронодефицитным гетероциклом? 3) При создании нафталинсодержащих аналогов были использованы только электронодонорные заместители. Можно ли предсказать, каким образом повлияет введение электроноакцепторных групп в нафталиновое кольцо на оптические свойства данных красителей? 4) Почему при снятии защитной дифенилтретбутилсилильной группы плавиковой кислотой в случае соединения 2.3.13b происходит селективное расщепление связи O-Si при атоме азота, а фенольная связь O-Si сохраняется? 5) Чем обусловлено возникновение второго максимума на спектре эмиссии соединения 2.3.10c в фосфатном буфере при средних значениях pH? 6) Для соединений 2.1.9 упоминается легкая изомеризация по двойной связи. Однако в экспериментальной части для большинства производных приведены спектральные характеристики для E-изомера. Каким образом устанавливалась конфигурация этой двойной связи и почему в спектрах ЯМР наблюдается лишь один изомер, несмотря на облегченную изомеризацию? 7) Почему некоторые соединения ионизируются через отщепление фтора, и в масс-спектре высокого разрешения наблюдается молекулярный ион $[M-F]^+$, в то время как большинство соединений ионизируется через классический путь присоединения протона? 8) В тексте диссертации не упоминается, как было получено соединение 2.3.11, однако его синтез не представляется очевидным. Было ли оно получено автором самостоятельно? 9) Большинство соединений, содержащих этиленовый мостик в положении 2 имидазолонового цикла, изображены в E-конфигурации. Устанавливали ли каким-либо образом этот факт? 10) Также в работе присутствует ряд опечаток и неточностей.

Выбор официальных оппонентов и представителей ведущей организации обосновывается их научными достижениями в области органического синтеза и химии флуоресцентных красителей, которые подтверждены сериями их публикаций в ведущих научных российских и международных журналах. Их высокая квалификация позволяет им объективно оценить степень научной новизны результатов диссертационной работы, ее теоритическую и практическую значимость.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований были предложены методы модификации хромофоров флуоресцентных белков, приводящие к увеличению квантового выхода флуоресценции и смещению максимумов поглощения и испускания в длинноволновую область спектра. Предложены удобные методы функционализации флуоресцентных красителей.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что было показано ключевое влияние подвижности бензилиденового фрагмента строения и природы заместителей на флуоресцентные свойства хромофоров флуоресцентных белков и

