

## ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе Осиповой Зинаиды Михайловны «Синтез люциферинов, оксилиуциферинов и их аналогов для изучения механизмов биолюминесценции почвенного червя *Fridericia heliota* и высших грибов», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Диссертационная работа Зинаиды Михайловны Осиповой является частью обширного комплексного исследования, посвященного установлению механизмов биолюминесценции различных организмов. Явление биолюминесценции имеет химическую природу. Ключевой стадией этого процесса, как правило, является взаимодействие фермента люциферазы с молекулой люциферина, в результате чего образуется оксилиуциферин в возбужденном состоянии. Далее следует переход оксилиуциферина в нормальное состояние, что сопровождается испусканием света. Примечательно, что люциферин-люциферазная система каждого организма, способного к биолюминесценции, уникальна. Помимо исключительно академического интереса к этому явлению, имеется весьма востребованная практическая значимость методов, разработанных на основе биолюминесценции. Среди последних можно отметить тесты на различные аналиты, иммунологические исследования, скрининг лекарств, а также биоимиджинг в режиме реального времени. Указанные методы имеют ряд ограничений в использовании, что обосновывает поиск новых биолюминесцентных систем. В связи с этим, работа Зинаиды Осиповой, направленная на исследование механизма биолюминесценции почвенного червя *Fridericia heliota* и высших грибов, является, безусловно, актуальной.

Диссертационная работа изложена на 138 страницах и состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, описания экспериментов, проведенных автором, выводов и списка литературы.

Литературный обзор диссертации посвящен современным аналитическим методам, основанным на явлении биолюминесценции. Рассмотрены различные аспекты использования указанных методов в области медицины и при разработке лекарств. Описаны известные на сегодняшний день люциферины и представлены химические трансформации этих молекул под действием люцифераз. Обзор включает в себя более 350 ссылок и является совершенно самостоятельным произведением, достойным публикации.

Научная новизна и практическая значимость диссертационной работы Зинаиды Осиповой заключаются в следующем:

1. Оптимизирован метод синтеза люциферина почвенного червя *Fridericia heliota*, в результате чего суммарный выход продукта увеличен в 50 раз.

2. Синтезированы (*Z*)-3-(4-гидроксифенил)2-метоксиакриловая кислота и её транс-изомер. Сравнением спектров  $^1\text{H}$  ЯМР полученных соединений и природных аналогов люциферина почвенного червя *F. heliota* доказана *Z*-конфигурация двойной связи в природных соединениях AsLn5, AsLn11 и AsLn12.

3. Получены аналоги люциферина *F. heliota*, варьируемые по фрагменту ГАМК. Показано, что эти соединения проявляют биолюминесцентную активность.

4. Синтезировано модельное соединение **2.31**, с использованием которого было показано, что механизм биолюминесцентной реакции *F. heliota* включает образование сложного эфира люциферина.

5. Впервые синтезированы люциферин высших грибов (*E*)-6-(3,4-дигидрокстирил)-3,4-дигидрокси-2Н-пиран-2-он и его аналоги, несущие различные донорные заместители в ароматическом ядре. Изучены спектральные характеристики полученных соединений. Показано, что в реакции биолюминесценции люциферина грибов ключевую роль играет пираноновый фрагмент субстрата.

6. Установлено строение продуктов биолюминесцентной реакции грибов и предложена структура оксилуциферина для данной системы.

В своей диссертационной работе Зинаида Осипова продемонстрировала хорошее владение современными методами органической и биоорганической химии. Хочу отметить эрудицию автора при разработке подходов к синтезу целевых соединений. Экспериментальная часть работы выполнена на современном методическом уровне, достоверность и воспроизводимость полученных результатов не вызывают сомнений. Выводы, сформулированные в диссертационной работе, логически следуют из этапов проделанной экспериментальной работы и вполне обоснованы.

К замечаниям, не влияющим на общую положительную оценку представленной работы, можно отнести следующее:

1. При обсуждении результатов уделено мало внимания подтверждению структуры полученных соединений. Например, на Схеме 2.17 представлен синтез соединений из общего предшественника **2.52**. Не ясно, образовывалась ли смесь *E*- и *Z*-изомеров? Как подтверждалась *транс*-конфигурация двойной связи в полученных соединениях **2.53-2.58**?

2. В разделе 2.1.1. при оптимизации синтеза метилового эфира CompX не обсуждается

подробно, с чем связано увеличение выхода соединения **2.4**.

3. В разделе 2.2.1. при описании синтеза грибного люциферина **2.33** автор отмечает легкость удаления двух метильных защитных групп по сравнению с аналогичной стадией в синтезе гиспидина **2.32** (Схема 2.16). С чем связано такое различие в реакционной способности указанных соединений?

4. К сожалению, автор не объясняет, с чем связан выбор аналогов грибного люциферина, описанных в разделе 2.2.3. Можно ли предсказать, куда будет направлять смещение максимумов в спектрах поглощения и люминесценции та или иная группа?

5. Не ясно, почему при установлении структуры продукта реакции биолюминесценции грибного люциферина – оксилуциферина (Раздел 2.2.4.) нельзя было выделить из реакционной массы собственно оксилуциферин (пик №6). Судя по Рисунку 2.10, это соединение накапливалось в значимых количествах через 150 минут после инкубации.

6. Встречаются в тексте не совсем удачные выражения. Например, на с. 53. «В ходе предварительных исследований *было установлено*, что активность в реакции биолюминесценции, *вероятнее всего*, проявляет одна из карбоксильных групп в остатке ω-оксалиллизина». Выводы (с. 104) можно было бы сформулировать короче.

Отмеченные неточности и недостатки в целом не сказываются на хорошей оценке представленной работы.

Сделанные диссертантом выводы и заключения соответствуют полученным в диссертации экспериментальным данным. В целом работа Зинаиды Осиповой представляет собой актуальное исследование. По результатам работы опубликовано 3 статьи в журналах с высокими индексами цитирования. Автореферат и опубликованные работы достаточно полно отражают основное содержание диссертации. Работа докладывалась на нескольких конференциях.

Следует отметить общий высокий уровень диссертационной работы Осиповой З.М. и хорошее представление полученных результатов в диссертации и автореферате. Представленная работа отличается четкостью постановки задачи и оптимальными методами ее решения.

Диссертационная работа Осиповой З.М. является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение нескольких теоретических и практических задач по изучению механизма биолюминесценции. Работа имеет существенное значение для биоорганической и органической химии. Диссертационная работа по поставленным задачам, уровню их решения, актуальности и научной новизне, безусловно, удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям («Положение о порядке присуждения ученых степеней», утвержденное постановлением

Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия.

Старший научный сотрудник Лаборатории химии гликоконъюгатов  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института органической химии им. Н.Д. Зелинского  
Российской академии наук (ИОХ РАН)  
кандидат химических наук

Надежда Евгеньевна Устюжанина

18 мая 2016 года

Адрес: Ленинский проспект, д. 47, Москва, 119991

Телефон: 8(499)135-6433

E-mail: takustya@mail.ru

Удостоверяю подпись к.х.н. Н.Е. Устюжаниной

Ученый секретарь ФГБУН ИОХ РАН

кандидат химических наук



Коршевец И.К.