

ОТЗЫВ

На автореферат диссертации Устимовой Марии Алексеевны «**Разработка флуоресцентных реагентов на основе стироловых производных для внутриклеточной визуализации**», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3 –органическая химия, 1.4.4– физическая химия

Работа Устимовой М.А. посвящена разработке методов получения новых моно- и бисстириловых производных различного состава и строения, изучению их оптических и фотофизических свойств. Созданию новых флуоресцентных реагентов на основе стироловых производных, способных к связыванию ДНК. Необходимо отметить, что малые флуоресцентные молекулы являются незаменимыми инструментами в биологии, они повсеместно используются в качестве молекулярных зондов, индикаторов окружающей среды и клеточных красителей. Одними из используемых классов флуорофоров для биологии и медицины служат стироловые красители, способные к нековалентному связыванию с биологическими молекулами, которые могут увеличивать интенсивность флуоресцентного отклика при иммобилизации на биологические объекты. Этим определяется высокая **актуальность настоящего исследования.**

Устимовой М.А. удалось успешно выполнить все задачи исследования. Ею синтезированы и охарактеризованы гомо- и гетеро-димерные бисстирилпиридиниевые красители типа «голова к голове», «голова к хвосту» и «хвост к хвосту», содержащие в фенильном ядре алкокси- и диалкиламино-группы. Показана возможность распознавания различных катионов металлов с помощью бисстириловых красителей, а также их способность к связыванию с нуклеиновыми кислотами. При этом, бисстириловые красители типа «голова к хвосту» демонстрируют интенсивное разгорание флуоресценции и обладают наибольшей селективностью к ДНК. Автором показано, что при фотовозбуждении несимметричного бисстирилового красителя можно использовать коротковолновое облучение с получением флуоресцентного сигнала благодаря переносу энергии между хромофорными фрагментами красителя в комплексе с катионами металлов, в связанной с биомолекулой форме, а также во внутриклеточной среде.

Автором получены неописанные ранее моностириловые производные гомодимерных и гетеродимерных бисстириловых красителей, впервые изучено взаимодействие бисстириловых красителей типа «голова-к-хвосту» с дц-ДНК тимуса теленка и РНК печени теленка. Обнаружены несимметричные бисстириловые красители, способные демонстрировать флуоресцентный отклик на присутствие ДНК, находящейся в смеси с РНК. Исследовано влияние структурной организации стироловых фрагментов бисстириловых красителей на связывание с ДНК. При взаимодействии с дц-ДНК симметричных бисстириловых красителей, хромофорные фрагменты которых были соединены через гетероциклический фрагмент, автором обнаружено образование агрегатов различной хиральности.

Особо следует отметить осуществленное Устимовой М.А. изящное объединение хромофоров в структуре бисстирилового красителя через гетероциклический (1, 2, 3-триазольный) и О-фенильный фрагмент с использованием клик-реакции в присутствии основания DIPEA и каталитических количеств CuI.

Помимо значительной **научной новизны**, работа Устимовой М.А. обладает **высокой практической значимостью**, ею разработаны удобные препаративные методы синтеза бисстириловых красителей. Получен краун-содержащий бисстириловый краситель который может использоваться для распознавания катионов металлов различной природы и ратиометрического детектирования ионов Hg²⁺ в живых клетках A549. Выявлены бисстириловые красители типа «голова к хвосту», проявившие значительную селективность при связывании с ДНК и низкую токсичность, которые могут использоваться для визуализации ДНК *in vitro*.

К автору имеются следующие вопросы:

1. В синтезе крауна **10** использовался катализатор в виде смеси кислоты и основания, тогда как во всех других случаях аналогичных реакций конденсации в работе использовался пиперидин. Предложите возможный механизм реакции образования соединения **10**.
2. При взаимодействии с ДНК красители «голова к голове» **2-4** склонны к агрегации, тогда как красители «голова к хвосту» не агрегируют. Дайте возможное объяснение этому явлению.

В целом, работа является законченной и выполнена автором самостоятельно на высоком научном уровне. Привлечение современных физико-химических методов исследования обеспечивает полную достоверность полученных автором данных. Работа хорошо апробирована – ее результаты доложены на профильных конференциях и опубликованы в высокорейтинговых научных изданиях, рекомендованных ВАК.

Заключение. Диссертационная работа **Устимовой Марии Алексеевны** «Разработка флуоресцентных реагентов на основе стироловых производных для внутриклеточной визуализации» представляет собой полноценную, завершенную научно-квалификационную работу, демонстрирует высокий уровень квалификации диссертанта и соответствует всем требованиям, предъявляемым к работе на соискание ученой степени кандидата химических наук, обозначенным в п.п. 9-14 Положения ВАК «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденном постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 в действующей редакции, а ее автор, **Устимова Мария Алексеевна**, безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности **1.4.3. Органическая химия и 1.4.4 – Физическая химия.**

Кандидат химических наук по специальности
02.00.03 – органическая химия,
научный сотрудник лаборатории
гетероциклических соединений
ИОС УрО РАН

Овчинникова Ирина Георгиевна

Почтовый адрес: 620108, Екатеринбург,
ул. С.Ковалевской, 22 / Академическая 20

Телефон: +7-922-205-6602, адрес электронной почты: iov@ios.uran.ru

Наименование организации: ФБГУН Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского
УрО РАН

Кандидат химических наук по специальности
02.00.03 – органическая химия,
ведущий научный сотрудник лаборатории
гетероциклических соединений
ИОС УрО РАН

Русинов Геннадий Леонидович

Почтовый адрес: 620108, Екатеринбург,
ул. С.Ковалевской, 22 / Академическая 20

Телефон: +7-912-241-8857, адрес электронной почты: rusinov@ios.uran.ru

Наименование организации: ФБГУН Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского
УрО РАН

Подписи н.с., к.х.н. Овчинниковой И.Г. и в.н.с., к.х.н. Русинова Г.Л. заверяю:

И.о.Ученого секретаря ИОС УрО РАН, к.т.н.

Л.Н. Глазырина



26.05.2023 г.