

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ИНЭОС РАН,
чл.-корр. РАН, д.х.н. А.А. Трифонов



2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова
Российской академии наук (ИНЭОС РАН)

Диссертационная работа «Разработка флуоресцентных реагентов на основе стироловых производных для внутриклеточной визуализации» **выполнена** Устимовой Марией Алексеевной в лаборатории фотоактивных супрамолекулярных систем №107 ИНЭОС РАН. В период подготовки и выполнения работы Устимова М.А. обучалась в очной аспирантуре (2018-2022 гг.) Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук, в настоящее время работает в лаборатории фотоактивных супрамолекулярных систем в должности младшего научного сотрудника.

Устимова М.А. окончила с отличием в 2018 г. Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева по направлению подготовки 18.04.01 «Химическая технология», получив квалификацию «магистр».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2023 г. Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институтом элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук.

Научный руководитель:

Федорова Ольга Анатольевна, доктор химических наук, профессор, заведующая лабораторией фотоактивных супрамолекулярных систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института

элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН).

Федоров Юрий Викторович, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории по разработке хелаторов и их конъюгатов с молекулами-векторами для получения радиофарм-препаратов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН).

Диссертационная работа была представлена на расширенном заседании совместного коллоквиума лаборатории фотоактивных супрамолекулярных систем, лаборатории по разработке хелаторов и их конъюгатов с молекулами-векторами для получения радиофармпрепаратов, лаборатории π -комплексов переходных металлов, лаборатории экологической химии, лаборатории гидридов металлов и лаборатории ядерного магнитного резонанса с участием четырех членов диссертационного совета ИНЭОС РАН

В ходе обсуждения были заданы следующие вопросы:

- *к.х.н. Панченко П.А.:*

Вопрос: В свободном виде стироловые красители обладают низким квантовым выходом флуоресценции, а при взаимодействии с ДНК интенсивность увеличивается, с чем это связано?

Ответ: В свободном виде стироловые красители обладают низким квантовым выходом флуоресценции, поскольку при облучении молекулы релаксация происходит безызлучательно, за счет вращения вокруг двойной связи- *E-Z*-изомеризация, и за счет вращения вокруг одинарных связей – образования так называемых ТИСТ-состояний. При взаимодействии молекулы с ДНК вращение вокруг связей становится затруднительным, и релаксация происходит излучательно, при этом наблюдается интенсивное разгорание флуоресценции.

- *д.х.н. Белкова Н.В.:*

Вопрос: Вы утверждаете, что в ваших системах несимметричных бис(стироловых) красителей реализуется резонансный перенос энергии по

Ферстеру, а почему именно он и в чем отличие переноса энергии по Ферстеру от переноса энергии по Декстеру?

Ответ: перенос энергии по Декстеру - это механизм тушения флуоресценции, в котором возбужденный электрон переносится от одной молекулы (донор) ко второй молекуле (акцептор) по безызлучательному пути. В отличие от переноса энергии по Ферстеру, этот процесс требует перекрытия волновой функции между донором и акцептором, поэтому он может реализоваться только на коротких расстояниях; обычно в пределах 10 Å. Расчёты геометрии молекул показали, что расстояние между хромофорами в полученных нами красителях более 10 Å, поэтому мы считаем, что в наших система перенос энергии протекает по механизму Ферстера.

- д.х.н. *Логинов Д.А.*:

Вопрос: По вашим результатам, очевидно, что несимметричный краситель с алифатическим линкером обладает большей афинностью к ДНК, по сравнению с красителем с триазольным линкером, как вы думаете, почему?

Ответ: триазольный фрагмент в структуре линкера может обеспечивать дополнительное взаимодействие с парами азотистых оснований ДНК и РНК, поэтому такой краситель показал меньшую избирательность при связывании с биомолекулами.

- к.х.н. *Черникова Е.Ю.*:

Вопрос: Какие есть альтернативные способы определения общей концентрации ртути в клетке?

Ответ: Определение общего содержания ртути в клетке возможно с использованием метода беспламенной атомно-абсорбционной спектроскопии.

По итогам заседания коллоквиума принято следующее заключение:

Диссертационная работа Устимовой М.А. посвящена актуальным фундаментальным и прикладным проблемам в области органической, физической и медицинской химии. Направлена на исследование сенсорных свойств краунсодержащего бисстирилового красителя, разработку новых, неописанных ранее гомо- и гетеро-димерных бисстириловых красителей,

изучение их оптических свойств и исследование их взаимодействий с биомолекулами ДНК/РНК. Работа выполнена на высоком профессиональном уровне, интерпретация полученных результатов не вызывает возражений, автором работы четко и обосновано сформулированы выводы, их достоверность не подлежит сомнениям.

Научная новизна и практическая ценность работы заключается в следующем:

Разработаны методы синтеза неописанных ранее моностириловых производных, гомодимерных и гетеродимерных бисстириловых красителей.

Показано влияние комплексообразования краунсодержащего бисстирилового красителя с различными катионами металлов на оптические характеристики и протекание фотоиндуцированного переноса энергии между хромофорными фрагментами молекулы.

При взаимодействии с дц-ДНК симметричных бисстириловых красителей, хромофорные фрагменты которых были соединены через гетероциклический фрагмент, обнаружено образование агрегатов различной хиральности.

В работе 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 в РНК.

Найден и количественно охарактеризован фотоиндуцированный перенос энергии в несимметричных бисстириловых красителях, протекание которого сохраняется в комплексе с катионами металлов, с биомолекулой, а также во внутриклеточной среде.

На серии соединений одного состава, но с различной организацией стириловых фрагментов, выявлено влияние структурной организации бисстириловых красителей на связывание с ДНК.

Результаты проведенных исследований показали, что полученный краунсодержащий бисстириловый краситель может использоваться для

распознавания катионов металлов различной природы и ратиометрического детектирования ионов Hg²⁺ в живых клетках A549.

Синтезированные бисстириловые красители при связывании с ДНК демонстрировали значительное разгорание флуоресценции, что свидетельствует о перспективности предложенных структур в качестве флуоресцентных маркеров для детектирования ДНК.

Бисстириловые красители типа «голова к хвосту» демонстрировали большую селективность при связывании с ДНК, чем с РНК и низкую токсичность, и могут использоваться для визуализации ДНК *in vitro*.

Личный вклад автора. Автор диссертации участвовал в анализе литературных данных, обсуждении задач, решаемых в диссертационной работе, подготовке и проведении экспериментов, разработке методик синтеза новых соединений, интерпретации полученных результатов и их обобщении, формулировке основных научных выводов, а также в написании научных публикаций и представлении докладов по теме диссертации на конференциях различного уровня.

Основное содержание работы отражено в 9 публикациях (6 - в научных журналах, рекомендованных ВАК, 3 – в журнале, включенном в РИНЦ) и в 12 тезисах докладов научных конференций.

Диссертация «Разработка флуоресцентных реагентов на основе стириловых производных для внутриклеточной визуализации» Устимовой Марии Алексеевны полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки России, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 и приказом Минобрнауки России от 10 ноября 2017 года №1093, предъявляемых к диссертационным работам и **рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3 – Органическая химия, 1.4.4 – Физическая химия.**

Заключение принято на расширенном заседании совместного коллоквиума лаборатории фотоактивных супрамолекулярных систем, лаборатории по

разработке хелаторов и их конъюгатов с молекулами-векторами для получения радиофармпрепаратов, лаборатории π -комплексов переходных металлов, лаборатории экологической химии, лаборатории гидридов металлов и лаборатории ядерного магнитного резонанса с участием четырех членов диссертационного совета ИНЭОС РАН от 2 марта 2023 года.

На заседании присутствовали 19 человек: д.х.н. Федорова О.А. (член совета), д.х.н. Федоров Ю.В., к.х.н. Гулакова Е.Н., к.х.н. Панченко П.А., к.х.н. Черникова Е.Ю., к.х.н. Зубенко А.Д., к.х.н. Павлова М.А., к.х.н. Токарев С.Д., к.х.н. Сайфутярова А.Э., м.н.с. Полякова А.С., м.н.с. Щукина А.А., м.н.с. Ефимова А.С., м.н.с. Перевозчикова П.С., м.н.с. Ботезату А., м.н.с. Пашанова А.В., д.х.н. Логинов Д.А. (член совета), д.х.н. Осипов С.Н. (член совета), д.х.н. Белкова Н.В. (член совета), д.х.н. Перегудов А.С. (член совета)

Результаты голосования: «За» - 19 чел., «Против» - 0 чел., «Воздержались» - 0 чел.

Председатель коллоквиума  к.х.н., с.н.с. Гулакова Е.Н.

Секретарь коллоквиума  к.х.н., н.с. Павлова М.А.

