

О Т З Ы В

официального оппонента Вацадзе Сергея Зурабовича

на диссертационную работу

ОСИПОВОЙ Зинаиды Михайловны

«Синтез люциферинов, оксилуциферинов и их аналогов для изучения механизмов биолюминесценции почвенного червя *Fridericia heliota* и высших грибов»

на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия.

Биолюминесценция является одной из форм хемилюминесценции, в ходе которой возбужденное состояние, необходимое для проявления свечения, достигается за счет химических реакций. Особенностью именно биолюминесценции является то, что такие химические процессы обычно представляют собой окисление субстрата (называемого *люциферин*ом) с помощью кислорода воздуха в присутствии ферментов (называемых *люциферазами*). Высокие квантовые выходы (до 1) биолюминесцентных реакций необычны для традиционных хемилюминесцентных процессов и обусловлены специфичной ферментативной природой окислительных реакций биолюминесценции, катализируемых люциферазными комплексами.

Ключевыми проблемами современных исследований биолюминесценции являются изучение механизмов известных процессов и поиск новых биолюминесцирующих систем. И если вторая проблема может быть отнесена к сугубо фундаментальным направлениям исследований, то результаты решения первой широко используются в практике. Биолюминесцирующие системы отлично зарекомендовали себя в аналитических приложениях, таких как тесты на биологически релевантные аналиты, иммунологические исследования, изучение экспрессии генов, скрининг лекарств, а также биоимиджинг живых систем в режиме реального времени.

Диссертационная работа Осиповой З.М. посвящена изучению двух новых люциферин-люциферазных систем: почвенных кольчатых малощетинковых червей *Fridericia heliota* и системы высших грибов. Рецензируемая диссертация построена традиционным способом, состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов,

списка сокращений и библиографии. Работа изложена на 138 страницах машинописного текста, содержит 9 таблиц, 28 схем и 31 рисунок. Список литературы включает 403 наименования.

В **обзоре литературы** представлены сведения об известных люциферин-люциферазных системах как с точки зрения механизмов их функционирования (на примере восьми изученных), так и описания прикладных возможностей в биоимиджинге. Обзор написан прекрасным языком, интересно читается, содержит огромное количество информации.

Целью работы было изучение двух новых люциферин-люциферазных систем. Для достижения поставленной цели автором решались следующие **задачи**:

- оптимизация синтеза природного люциферина почвенного червя *Fridericia heliota*;
- разработка метода синтеза фрагмента природных аналогов люциферина почвенного червя *Fridericia heliota*;
- установление конфигурации тризамещенной двойной связи в полученных соединениях;
- получение аналогов люциферина *Fridericia heliota*, изменяемых по фрагменту ГАМК, изучение их спектральных характеристик;
- разработка метода синтеза аденилата люциферина *Fridericia heliota* для подтверждения механизма биолюминесценции *F. heliota*;
- разработка метода синтеза нового природного люциферина высших грибов;
- получение ряда структурных аналогов люциферина высших грибов и изучение их спектральных характеристик;
- установление строения продуктов биолюминесцентной реакции грибов;

- установление структуры оксилиуциферина грибов.

Автором убедительно показано, что механизм биolumинесцентной реакции почвенного червя *F. heliota* аналогичен механизму биolumинесценции *D*-люциферина светляка. Он проходит через стадии образования аденилата люциферина и окислительное декарбоксилирование по α -положению в остатке лизина. Найдено, что люциферин высших грибов представляет собой (*E*)-6-(3,4-дигидрокстирил)-3,4-дигидрокси-2H-пиран-2-он. На основании строения продуктов реакции биolumинесценции люциферина грибов предложена структура соответствующего оксилиуциферина: (2*Z*,5*E*)-6-(3,4-дигидроксифенил)-2-гидрокси-4-оксогекса-2,5-диеновая кислота.

При чтении Обсуждения результатов как будто погружаешься в реальную живую атмосферу современной лаборатории, занятой определением структуры новых, неизвестных соединений, стараешься мысленно помочь автору преодолеть возникающие трудности. Автор демонстрирует глубокие знания органического синтеза, каждый раздел завершается обобщением полученных результатов.

Наиболее яркие **научно-практические достижения** представленной работы могут вкратце быть выражены следующим образом:

- применение конвергентной схемы синтеза люциферина *Fridericia heliota* позволило упростить синтез и повысить общий выход;
- впервые получены производное люциферина с линкерной аминогруппой и его конъюгат с флуоресцентным красителем;
- впервые получен аналог люциферина *Fridericia heliota* с измененными спектральными свойствами;
- доказана *Z*-конфигурация двойной связи в природных аналогах люциферина *Fridericia heliota* AsLn5, AsLn11 и AsLn12;
- показано, что механизм биolumинесцентной реакции *Fridericia heliota*

включает образование аденилата люциферина;

- впервые получены шесть структурных аналогов люциферина высших грибов; показано, что в реакции биолюминесценции люциферина грибов ключевую роль играет пираноновый фрагмент субстрата;
- установлено строение продуктов биолюминесцентной реакции грибов.

В *экспериментальной части* приводятся данные, необходимые для анализа и понимания полученных автором результатов, а также проверки их достоверности. Основное содержание диссертационного исследования отражено в 5 работах, в том числе 3 статьях, опубликованных в журналах, включенных в перечень научных изданий ВАК РФ и 2 тезисах докладов на конференциях.

Таким образом, на основании анализа текста работы и публикаций автора можно заявить, что **цель** работы, сформулированная в постановочной части, автором **достигнута**, а сопутствующие ей **задачи выполнены**. Представленные в работе **научные положения, выводы и рекомендации** являются обоснованными. Автореферат и публикации **полностью отражают** содержание диссертации.

Работа практически лишена методических и стилистических недостатков. Тем не менее, по работе могут быть сделаны некоторые замечания и заданы вопросы, которые могут стать основой для полезной дискуссии:

- в *постановочной части* работы цель работы, сформулированная как «изучение», звучит не очень корректно – как проверить ее достижимость? Соответственно, и формулировка первого, главного, вывода о достижении поставленной цели, отсутствует;
- *обзор литературы*: обширность и разнообразие тематик обзора в ущерб конкретике – много отсылок к обзорам в литературе;
- стр. 28 – стоило указать, какие именно нанотрубки упоминаются – скорее всего, речь идёт об углеродных материалах;

- стоило завершить обзор литературы критическим обобщением, которое стало бы основой для постановки целей и задач исследования;
- *обсуждение результатов*: я бы с большой натяжкой отнёс «Люциферин *Fridericia heliota* 2.1» к классу *penmidov*;
- *редакторские*: «в работе...кратко обзревается исследования»; «биоимаджинг»; в подписи к рис. 1.3 стоило конкретизировать, что это за «восемь люциферинов»; на рис. 5 автореферата не видна нумерация атомов; стр. 15 автореферата – вместо «Спектры...приведены в Таблице» нужно было указать «Данные спектров...приведены...».

В целом, несмотря на отмеченные замечания и вопросы, диссертация представляет собой законченную научно-исследовательскую работу на актуальную тему исследования новых люциферин-люциферазных систем. Работа соответствует паспорту заявленной специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия в области исследований: 4. Выделение и синтез молекулярных ансамблей, моделирующих функции природных живых систем (например, фотосинтез, передача нервного импульса, лиганд-рецепторные взаимодействия и др); 5. Низкомолекулярные биорегуляторы; пептиды, нуклеотиды, пептидные и стероидные гормоны, витамины, липиды, простагландины, лейкотриены и другие метаболиты арахидоновой кислоты, алкалоиды и другие химические соединения из микроорганизмов, грибов, водорослей, растений и животных, их синтетические аналоги, а также синтетические биологически активные вещества (лекарства, пестициды). Научные результаты, полученные диссертантом, имеют существенное значение для синтеза практически востребованных веществ и реализации важных биомиметических процессов.

На основании проведенного анализа можно заявить, что представленная работа удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатской диссертации в соответствии с «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г., №842, а её автор, Осипова Зинаида

Михайловна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биорганическая химия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук

по специальности 02.00.03 – органическая химия,

профессор кафедры органической химии

Химического факультета МГУ, профессор РАН

Вацадзе Сергей Зурабович

Декан Химического факультета

МГУ имени М.В. Ломоносова,

академик РАН, профессор



Лунин Валерий Васильевич

Почтовый адрес: 119991 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

Телефон: +74959391234

Адрес электронной почты: szv@org.chem.msu.ru

Наименование организации:

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Химический факультет

10 мая 2016 г.