

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.039.01 НА  
БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ.  
Н.М. ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ  
НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Решение диссертационного совета от 17.02.2021 г., протокол № 1

О присуждении Костюкову Алексею Александровичу, гражданину Российской Федерации, учёной степени кандидата химических наук.

Диссертация «Фотохимия гептаметиновых цианиновых, триметиновых бисцианиновых красителей и их комплексов с биомакромолекулами» по специальности 02.00.04 – физическая химия принята к защите 23 ноября 2020 года, протокол №13, диссертационным советом Д 002.039.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по адресу: 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д.4; приказ Министерства образования и науки 105/нк от 11 апреля 2012 года.

**Соискатель** – Костюков Алексей Александрович, 1988 года рождения, в 2010 году окончил Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова по специальности «медицинская химия». С 2010 г. по 2014 г. обучался в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология. В период подготовки диссертации с 2015 года и по настоящее время работает в должности научного сотрудника лаборатории процессов фотосенсибилизации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

**Диссертация выполнена** в лаборатории процессов фотосенсибилизации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

**Научный руководитель** – доктор химических наук, профессор, Кузьмин Владимир Александрович, заведующий лабораторией процессов фотосенсибилизации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

**Официальные оппоненты:**

**Корчак Владимир Николаевич**, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией гетерогенного катализа Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра химической физики им. Н. Н. Семенова Российской академии наук;

**Хренова Мария Григорьевна**, доктор физико-математических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры физической химии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»;

**дали положительные отзывы на диссертацию.**

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химической физики Российской академии наук, в своём положительном заключении, подписанном заведующим отделом нанофотоники, доктором химических наук Бричкиным Сергеем Борисовичем, заслушанном на заседании секции №9 Ученого совета Института проблем химической физики РАН и утвержденном временно исполняющим обязанности директора Института, доктором физико-математических наук, профессором Ломоносовым Игорем Владимировичем отметила, что проведение работ, направленных на исследование и улучшение характеристик флуорофоров и фотосенсибилизаторов на основе цианиновых красителей ближнего ИК-

диапазона представляет большой научный и практический интерес, а актуальность диссертационного исследования не вызывает сомнений. В представленной работе охарактеризованы красители для оптической медицинской визуализации, подтверждена их фотохимическая безопасность для применения по отсутствию прямого заселения триплетного уровня энергии. Разработан подход к созданию перспективного фотосенсибилизатора на основе бискабоцианинового красителя, а также его комплекса с белком-доставщиком, специфичным к определенным клеткам. Достоверность и обоснованность полученных результатов базируется на комплексном анализе современного состояния вопроса по теме диссертации с привлечением имеющихся достижений в данной области науки, комплексном использовании современных физико-химических методов. Выводы, сделанные автором, представляются достоверными, имеющими существенную новизну и могут быть использованы при разработке реагентов для оптической медицинской визуализации и современных фотосенсибилизаторов на основе цианиновых красителей. В заключение отмечено, что по актуальности, новизне, практической значимости и уровню проведенных исследований работа соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительством Российской Федерации от 24 сентября 2013 г №842 (Ред.от 01.10.2018, с изменениями от 26.05.2020), а ее автор, Костюков Алексей Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04-физическая химия.

Соискатель имеет 19 опубликованных работ, все по теме диссертации, из них 9 статей, опубликованных в рецензируемых российских и международных научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, и тезисы 11 докладов на российских и международных конференциях.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Kuzmin V. A. Complex formation of albumin with tricarbocyanine dyes containing phosphonate groups / V. A. Kuzmin, T. D. Nekipelova, T. A. Podrugina, A. A. Kostyukov et al. // Photochemical and Photobiological Sciences. 2016. Vol. 15, №.

11. P. 1377. (Scopus)

2. Radchenko A. Photoactivated biscarbocyanine dye with two conjugated chromophores: complexes with albumin, photochemical and phototoxic properties / A. Radchenko, A. A. Kostyukov, A. Markova, A. A. Shtil, T. D. Nekipelova, I. E. Borissevitch, V. A. Kuzmin // Photochemical and Photobiological Sciences. 2019. Vol. 18. P. 2461. (Scopus)

3. Костюков А.А. Взаимодействие триплетного состояния бискарбощианинового красителя с нитроксильным радикалом / Костюков А.А., Некипелова Т.Д., Борисевич Ю.Е., Кузьмин В.А. // Химия высоких энергий. 2019. Т. 53. № 1. С. 76.

На автореферат поступило 9 положительных отзывов: **1)** отзыв д.ф.-м.н., профессора Овчинникова Олега Владимировича, декана физического факультета ФГБУН «Воронежский государственный университет» без замечаний; **2)** отзыв д.х.н. Варижук Анны Михайловны, ведущего научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального Медико-биологического Агентства» содержит замечания редакционного характера; **3)** отзыв д.ф.-м.н., профессора Витухновского Алексея Григорьевича, главного научного сотрудника отдела люминесценции им. С.И. Вавилова Физического института им. П.Н. Лебедева РАН без замечаний; **4)** в отзыве д.ф.-м.н. Мотякина Михаила Викторовича, ведущего научного сотрудника ФГБУН Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, предложено продолжить работу изучением влияния связывания красителя с белками на тушение флуоресценции аминокислот и возможности дополнительного подтверждения образования анион радикала методом ЭПР; **5)** отзыв д.х.н., профессора, Федоровой Ольги Анатольевны, заведующей лабораторией фотоактивных супрамолекулярных систем ФГБУН Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН содержит замечания редакционного характера; **6)** в отзыве к.х.н. Тюрина Владимира Сергеевича, старшего научного сотрудника лаборатории новых физико-

химических проблем ФГБУН Института физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН указано на некоторые недочеты в описании и оформлении, а также необходимости указать величины квантового выхода триплетных состояний и синглетного кислорода для красителя БЦК, который позиционируется в качестве перспективного фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии; 7) в отзыве к.х.н. Замилацкого Ильи Алексеевича, старшего научного сотрудника ФГБУН Института физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина, в качестве замечаний отмечено: 1. необходимость пояснения различий в величинах констант связывания, рассчитанных по изменению поглощения и флуоресценции; 2. не указаны оптические плотности растворов красителей в экспериментах по импульсному фотолизу; 8) в отзыве д.х.н., профессора Сафонова Виктора Алексеевича, главного научного сотрудника химического факультета ФГБУВО МГУ им. М.В. Ломоносова содержатся замечания относительно необходимости дополнительного экспериментального подтверждения (желательно прямого) результатов расчета конформации комплекса краситель-белок; а также целесообразности учета вольтамперометрических показателей для новых фотосенсибилизаторов и сопоставления их с уже используемыми соединениями; 9) в отзыве д.х.н. Мирочника Анатолия Григорьевича, заведующего лабораторией светотрансформирующих материалов ФГБУН Института химии Дальневосточного отделения РАН содержатся замечания редакционного характера.

В отзывах отмечено, что актуальность темы диссертации не вызывает сомнения, полученные результаты имеют важное научное и практическое значение, выводы соответствуют поставленным задачам, достоверны и не вызывают сомнений. В качестве достоинств работы отмечается, что предлагаемые в работе фотосенсибилизаторы и флуорофоры для применения в качестве медицинских препаратов могут стать эффективными средствами в диагностике и лечении социально-значимых заболеваний.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации** обоснован их специализацией по проблеме настоящей диссертационной работы и достижениями в области кинетики быстрых фотохимических процессов и физической химии молекулярно-организованных систем, а также наличием публикаций в соответствующей сфере исследования и способностью оценить научную и практическую значимость диссертации. Оппонент д.х.н., профессор Корчак В.Н. является ведущим специалистом в области исследования спектрально-кинетических процессов люминесценции сложных комплексов переходных элементов. Оппонент д.ф.-м.н., профессор Хренова М.Г. является ведущим специалистом в области изучения процессов в нековалентных комплексах, имеющих в своем составе биомакромолекулы, моделирования процессов ферментативной активности. Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химической физики Российской академии наук является ведущей научно-исследовательской организацией России в области изучения кинетики и катализа, синтеза наноматериалов, физической химии и фотоники.

**Диссертационный совет отмечает,** что на основании выполненных соискателем исследований:

**разработана** модель, описывающая образование нековалентного комплекса между бискарбоцианиновым красителем и молекулой альбумина. Установлены основные характеристики процесса быстрого фотопереноса электрона от донора электрона на триплетное состояние бискарбоцианинового красителя в комплексах красителя с биомакромолекулой;

**предложены** подходы к созданию фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии на основе бискарбоцианиновых красителей и их комплексов с биомакромолекулами;

**доказана** фотоцитотоксичность предлагаемых фотосенсибилизаторов на линии раковых клеток НСТ116, продемонстрирована локализация фотосенсибилизаторов в компартментах клетки;

**Теоретическая значимость** исследования обоснована тем, что:

**применительно к проблематике диссертации результативно** использован комплекс современных методов исследования спектральных и кинетических методов для получения характеристик исследуемых соединений: спектрофотометрия, спектрофлуориметрия, регистрация кинетики деградации синглетно-возбужденного состояния методом счета единичных фотонов, импульсный фотолиз, расчет конформации лиганд-белок методом полужесткого докинга, лазерная конфокальная флуоресцентная микроскопия;

**изложены** экспериментальные данные, свидетельствующие о наличии двух типов комплексов между молекулой цианинового красителя и альбумина; установлено, что геометрия определяется преимущественно гидрофобными взаимодействиями;

**раскрыты** особенности процесса комплексообразования между цианиновыми красителями и альбумином; установлено, что при формировании комплекса происходит разрушение агрегатов красителя; введение гидрофобных заместителей повышает константу связывания;

**изучены** закономерности процесса быстрого фотопереноса электрона от донора электрона на молекулу бискарбоцианинового красителя. Показано, что разрушение хромофорной системы бискарбоцианинового красителя происходит только при фотооблучении, что доказывает участие триплетного состояния молекулы бискарбоцианинового красителя.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики** подтверждается тем, что:

**разработаны** подходы к созданию перспективных фотосенсибилизаторов и флуорофоров на основе бискарбоцианиновых и гептаметиновых цианиновых красителей, определены величины констант связывания с альбумином, импульсными методами установлены константы гибели триплетного состояния исследуемых соединений;

**определены** величины времен жизни флуоресценции молекул исследуемых красителей в органических растворителях и водной фазе, также установлены времена жизни флуоресценции в комплексах с биомакромолекулами;

**представлены** экспериментальные данные, подтверждающие участие триплетного состояния красителя в формировании активных форм кислорода, влекущих за собою гибель раковых клеток по механизму апоптоза.

**Оценка достоверности результатов** выявила:

для экспериментальных работ результаты получены на высокотехнологичном оборудовании с применением стандартизированных методик, надёжность результатов исследований обусловлена многократной повторностью испытаний и анализом ряда контрольных экспериментов, показана воспроизводимость результатов исследования при различных постановках эксперимента; научные положения, выводы и результаты, сформулированные в диссертации, полностью обоснованы экспериментальными данными;

**теория** опирается на известные литературные данные по физической химии цианиновых красителей и их комплексов с биомакромолекулами и согласуется с ранее опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

**идея** базируется на анализе передового опыта в области создания новых фотосенсибилизаторов и препаратов для оптической медицинской визуализации и обобщении полученного в работе экспериментального материала;

**использованы** авторские данные и данные, полученные ранее по рассматриваемой тематике;

**установлено** согласование авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по созданию нового поколения флуорофоров и фотосенсибилизаторов;

**использованы** современные методики сбора и обработки литературных данных с обоснованием выбора объектов и методов исследования.

**Личный вклад** соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах работы, в том числе анализе литературных данных, планировании и проведении научных экспериментов, обработке и интерпретации экспериментальных данных, формулировке положений и выводов, а также подготовке статей к опубликованию и представлении результатов на научных конференциях.



