

УТВЕРЖДАЮ

Врио директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт проблем химической физики Российской академии наук (ИПХФ РАН),
Доктор физико-математических наук,
профессор

И.В. Домоносов

«22» декабря 2020 г.

Отзыв ведущей организации

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химической физики Российской академии наук на диссертационную работу **Костюкова Алексея Александровича «Фотохимия гептаметиновых цианиновых, триметиновых бисцианиновых красителей и их комплексов с биомакромолекулами»**, представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

В современной физической химии наблюдается тенденция к более активному проведению мультидисциплинарных исследований. Уровень результатов может быть существенно повышен при проведении исследований в области пересечения таких дисциплин как физическая химия, фотохимия органических красителей, фотобиология и фотомедицина. Проведение работ, направленных на исследование и улучшение характеристик флуорофоров и фотосенсибилизаторов на основе цианиновых красителей ближнего ИК-диапазона представляет большой научный и практический интерес. В этой связи **актуальность** диссертационного исследования Костюкова А.А. не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость работы.

Новая научная информация, полученная в рассматриваемой работе, представляет существенный научный и практический интерес:

1. Серия новых красителей охарактеризована электронными спектрами поглощения и флуоресценции.
2. Для серии новых соединений получены константы связывания с человеческим сывороточным и бычьим сывороточным альбуминами, а также химерными белками, полученными методом искусственного синтеза, обладающие специфическим сродством к клеткам раковой опухоли.

3. Зарегистрирована кинетика гибели флуоресценции исследуемых красителей в различных средах, в том числе в комплексе с белком. Установлены времена жизни флуоресценции исследуемых красителей. Дана оценка структуры образующегося комплекса краситель-белок.
4. Методом импульсного фотолиза получены спектрально-кинетические характеристики для исследуемой серии красителей, в т.ч. новых. Получена экспериментальная оценка квантового выхода триплетного состояния гептаметиновых красителей для кардиолина и родственных ему фосфонатных и фосфоновых производных. Оценены константы скоростей релаксации возбужденных состояний.
5. Методом молекулярного докинга и молекулярной динамики дана оценка взаимной ориентации исследуемых красителей и биомакромолекул-комплексообразователей. Оценена корреляция полученной согласно докингу конформации и экспериментальными данными по флуоресценции
6. Подробна разобрана проблема фотодеградации красителя, показана роль триплетного состояния в реакции разрушения красителя. В дальнейшем данная гипотеза подтверждена импульсным фотолизом с белком.
7. Показано прямое заселение триплетного состояния бискарбоцианинового красителя с бензобистиазольным фрагментом. Формирование триплетного состояния подтверждено тушением кислородом с константой, близкой к диффузионной. Продемонстрирована эффективность тушения триплетного состояния бискарбоцианинового красителя нитроксильным радикалом по ускорению процесса интеркомбинационно конверсии. Гипотеза переноса электрона с донора электрона на триплетное состояние красителя подтверждена по реакции образования анион-радикала красителя с ароматическим амином. Показано увеличение выхода триплетного состояния при прямом фотовозбуждении бискарбоцианинового красителя в комплексе с альбумином и ДНК.

Соответствие тематики диссертационной работы паспорту специальности

Содержание диссертации Костюкова Алексея Александровича «Фотохимия гептаметиновых цианиновых, триметиновых бисцианиновых красителей и их комплексов с биомакромолекулами» соответствует паспорту специальности 02.00.04 – физическая химия (пункты 4,7,10).

Цель диссертационной работы заключалась в исследовании спектрально-кинетических характеристик цианиновых красителей ближнего ИК-диапазона, закономерностей взаимодействия красителей с биомакромолекулами. 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 бискарбоцианинового красителя, а также его комплекса с белком-доставщиком, специфичным к определенным клеткам.

Исследование, представленное в диссертации, представляет научно-квалификационную работу, направленную на последовательное решение вышеперечисленных научных задач.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, аналитического обзора и изложения теоретических представлений, положенных в основу диссертации (глава 1), экспериментальной части, использованных подходов (глава 2), обсуждения результатов (глава 3), выводов, список использованных сокращений, списка цитируемой литературы (148 наименований). Общий объем работы 139 страниц, включая 52 рисунка и 9 таблиц.

В главе 1 приведен аналитический обзор литературных данных, представленная информация об объектах исследования. Приведена информация о структуре и методе получения цианиновых красителей. Описаны процессы флуоресценции и фотоизомеризации цианиновых красителей. Подробно изложены современные представления о фотодинамической терапии и важности доставки фотосенсибилизатора в клетки патологического процесса через комплексы с биомакромолекулами. Описан метод молекулярного докинга с позиции расчета взаимного расположения молекул красителя и белка. Даны сведения о применении цианиновых красителей, их структуре. Представлена проблематика фотоактивности гептаметиновых красителей. Рассмотрены спектральные свойства бискарбоцианиновых красителей.

В главе 2 излагаются теоретические представления, положенные в основу диссертационной работы и использованные подходы. Рассмотрены принципиальные схемы устройства установок, применяемых для проведения экспериментов. Охарактеризованы использованные в работе подходы для работы с клетками.

В главе 3 излагаются практически полученные результаты: константы связывания с белками, спектрально-кинетические характеристики триплетного и синглетного возбужденных состояний. Продемонстрировано образование первичного комплекса столкновения красителя с белком, впоследствии приводящее к перестройке и образованию нековалентного комплекса, в котором краситель размещается в гидрофобном участке связывания. Полученные данные о кинетике гибели флуоресценции подтверждают образование двух типов комплекса красителя с белком. При помощи импульсного фотолиза показано ускорение интеркомбинационной конверсии при прямом фотовозбуждении бискарбоцианинового красителя с белком. Исследовано тушение триплетного состояния бискарбоцианиновых красителей кислородом, нитроксильным радикалом, ароматическим амином.

Работу завершает раздел **выводы**, в котором перечислены достигнутые конкретные научные результаты.

Таким образом диссертация содержит подробный аналитический обзор по обозначенной актуальной теме исследования, содержит подробное описание методов и методик, необходимое количество экспериментальных результатов для проведения их анализа и представления научно-обоснованных выводов.

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, широким ассортиментом научного оборудования института для успешного осуществления экспериментальной работы, критическом анализе полученных данных и воспроизводимости результатов.

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.

По материалам кандидатской диссертации опубликовано 9 работ в научных журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий ВАК РФ, 10 публикаций в сборниках различных конференций, а также получен патент РФ.

Основные результаты были представлены на 9 всероссийских и международных конференциях, работы отмечены дипломами за лучшие доклады.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.

Результаты работы могут быть рекомендованы для использования в фотомедицине и фотобиологии, также в лабораториях, занимающихся разработкой новых фотосенсибилизаторов и флуорофоров в красной и области ближнего ИК частей спектра. Для лабораторий, занимающихся органическим синтезом цианиновых красителей, применяемых в создании флуоресцентных меток диагностических тест-систем на основе комплиментарной гибридизации последовательности нуклеотидов. Полученные в работе данные, несомненно, будут интересны для исследовательских групп и лабораторий в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институте геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте проблем химической физики РАН, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте физической химии и электрохимии им. А.Н.Фрумкина, Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова (МГУ), Санкт-Петербургском политехническом университете Петра Великого (СПбПУ) и ряде других высших учебных заведений РФ. Полученные результаты представляют интерес при разработке учебных курсов по фотохимии цианиновых красителей и их комплексов с биомакромолекулами.

Вопросы и замечания по диссертационной работе

При рассмотрении диссертации возникли следующие вопросы:

1. Диссертации не представлены сведения по каким признакам проводился отбор красителей для исследований.
2. Автором были выполнены исследования по оценке уровня триплетной энергии исследуемых красителей методом сенсibilизированного заселения триплетного состояния красителей и определена верхняя граница, однако экспериментов по определению нижней границы не было представлено.
3. В методической части работы нет подробного описания методик, которые были использованы для подготовки растворов при изучении процессов комплексообразования, особенно методом остановленной струи.
4. Гипотеза о перестройке типа комплекса при повышении концентрации альбумина требует дополнительного подтверждения методами молекулярной динамики.
5. На рисунке 43 изображен спектр анион-радикала красителя БКЦ1, однако часть спектра до 600 нм не представлена.

Указанные замечания не снижают общего положительного впечатления о выполненной диссертационной работе. Диссертация и автореферат написаны грамотно, оформлены в соответствии с требованиями ГОСТ 7.0.11-2011 «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления». Автореферат диссертации в достаточной степени отражает общее содержание диссертационной работы.

Заключение

На основании рассмотрения материала диссертации, автореферата и представления работы на научном семинаре в Отделе нанофотоники ИПХФ РАН, ведущая организации считает, что диссертационная работа Костюкова А.А. представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, выполненную автором самостоятельно на высоком экспериментальном и теоретическом уровне. В ней содержатся научно-обоснованные решения проблемы в разработке новых флуорофоров и фотосенсибилизаторов для практического применения в фотобиологии и фотомедицине.

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 изм от 26.05.2020), а ее автор, Костюков Алексей Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04-физическая химия.

Отзыв на диссертацию был обсужден и одобрен на заседании секции №9 Ученого совета Института проблем химической физики РАН от «22» декабря 2020 г., протокол №18.

Главный научный сотрудник,
доктор химических наук,
(специальность 02.00.04)



Бричкин Сергей Борисович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химической физики Российской академии наук

Почтовый адрес: 142432, Московская обл., г. Черноголовка, просп. Ак. Семенова, д. 1

Телефон: +7 (495) 9935707

Адрес электронной почты: director@icp.ac.ru

Web-cat: <https://www.icp.ac.ru/>

Личную подпись Бричкина С.Б. заверяю:

Ученый секретарь ИПХФ РАН,

д.х.н.



Психа Борис Львович