

## Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Костюкова Алексея Александровича *«Фотохимия гептаметиновых цианиновых, триметиновых бисцианиновых красителей и их комплексов с биомакромолекулами»*, представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Исследование процессов, происходящих с молекулами красителей в результате их электронного возбуждения, является основой для определения их флуоресцентных и фотосенсибилизирующих свойств. При этом связывания с белками может существенным образом влиять на эти процессы. Изучение фотохимических характеристик новых красителей позволит расширить спектр уже применяемых в практике фотосенсибилизаторов и флуорофоров. Моделирование процессов, происходящих в комплексах белок-краситель необходимо для выявления закономерностей поведения различных структурных типов полиметиновых красителей.

Объекты исследования представляют собой соединения, спектральные характеристики которых изменены благодаря эффекту Давыдова. Наличие сопряжения между хромофорами в молекулах бисполиметиновых красителей приводит к расщеплению возбужденного синглетного уровня и появлению в спектре поглощения двух новых полос в коротковолновой и длинноволновой областях спектра, при этом полоса поглощения в красной и ближней ИК области попадает в терапевтическое окно, что является важным фактором при использовании красителей в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии в онкологии. В то же время исследование красителей, флуоресцирующих в ближнем ИК-диапазоне позволяет развивать оптическую медицинскую визуализацию как один из методов диагностики.

Целью диссертационной работы являлось определение фотофизических свойств выбранных гептаметиновых цианиновых и бискарбоцианиновых красителей при взаимодействии с биомакромолекулами. Основное содержание работы составляет обсуждение полученных спектрально-кинетических характеристик красителей методами спектрофотометрии, спектрофлуориметрии и методом счета единичных фотонов в растворах органических растворителей и комплексе с белками. Импульсными методами охарактеризованы процессы релаксации возбужденных состояний исследуемых красителей и интеркомбинационной конверсии. Также в работе представлены теоретические исследования, которые дополняют эксперимент.

Построение диссертации. Диссертационная работа Костюкова А.А. имеет традиционную структуру: состоит из введения, 3 глав (обзор литературы, материалы и методы, экспериментальная часть), выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка цитируемой литературы (148 источников).

Во **введении** (с.3-10) диссертант обосновывает актуальность темы исследования, формулирует цели и задачи работы, отмечает положения, выносимые на защиту, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, описывает личный вклад автора, достоверность полученных результатов, апробацию результатов исследования, приводит количество публикаций, структуру и объем работы.

В **главе 1 (обзор литературы)** (с. 11-43) приведен обзор научной литературы, посвященной методам получения цианиновых красителей, фотохимических процессах, протекающих при их применении для фотодинамической терапии, а также особенности комплексообразования с белком и ДНК. Проведен анализ литературы, касающийся фотохимии гептаметиновых красителей и бискарбоцианиновых красителей. Показана противоречивость литературных данных относительно фотохимической безопасности применяемого в медицинской практике кардиолина, что является ключевым фактором, определяющим актуальность задачи исследования. Представлено подробное описание подкласса цианиновых красителей, содержащих две сопряженные хромофорные системы. Показано влияние сопряжения хромофоров на изменение спектральных свойств исследуемых соединений.

В **главе 2 (материалы и методы)** (с.36-43) описаны методы и методики проводимого исследования. Перечислено используемое в работе оборудование, приведено описание его принципиального устройства, даны основные параметры интерпретации полученных данных.

**Глава 3** (с. 44-121) посвящена обсуждению результатов и экспериментальных данных исследования спектрально-кинетических характеристик гептаметиновых и бискарбоцианиновых красителей и их комплексов с альбумином. Исследована их фотохимическая активность методом импульсного фотолиза используя прямое и сенсibilизированное заселение триплетного уровня красителей. Проведена интерпретация полученных данных о размещении красителей в участках связывания с белком. Показано преимущественное размещение красителя в гидрофобном кармане белка. Полученные данные коррелируют с анализом кинетики гибели флуоресценции исследуемых красителей в комплексе с белком.

Автором диссертации была проделана большая работа по получению и обработке массива кинетических данных. Все полученные в работе спектрально-кинетические характеристики были проанализированы в соответствии с механизмом процесса который описывали. Диссертантом были рассчитаны на основании экспериментальных данных константы связывания исследуемых красителей с различными белками (альбумин, альфа-фетопротеин). Продемонстрировано снижение вклада колебательной релаксации в процессы деградации энергии возбужденных состояний. Показано влияние кислорода на деградацию красителя в растворе. Получены спектры триплетных состояний красителей в органических растворителях и комплексах с биомакромолекулами. Оценены константы скорости кинетики гибели элементарных процессов. Важным научным результатом является доказательство триплетной природы полученных спектров возбужденных состояний красителей по тушению кислородом с близкой к диффузионной константе, с учетом спин-статистического фактора. Также научную ценность представляет регистрация процесса фотопереноса электрона, являющегося отправной точкой в возникновении активных форм кислорода, прежде всего супероксид-анион радикала, необходимых для проведения фотодинамической терапии.

Завершают работу заключение и основные выводы, которые соответствуют поставленным целям и задачам исследования и в полной мере отражают полученные автором результаты.

Следует отметить большой объем полученных диссертантом экспериментальных данных и широкий круг использованных в работе современных методов и подходов, таких как – измерение времен жизни флуоресценции методом счета единичных фотонов, флуоресцентная конфокальная микроскопия, импульсный фотолиз, молекулярный докинг и классическая молекулярная динамика. Согласованность результатов, полученных разными методами, позволяет без сомнения считать приведенные в работе результаты **достоверными**.

Полученные в работе результаты без сомнения определяют **научную новизну** исследования, подтверждаемую полученными данными при изучении закономерностей фотохимических процессов с участием цианиновых красителей при помещении их в живые системы.

**Практическая значимость** рецензируемой работы состоит в разработке нового фотосенсибилизатора для ФДТ, демонстрации его накопления на клетках и цитотоксичности. Получен патент на изобретение RU2638131C1 «Фотосенсибилизатор на

основе карбоцианинового красителя для фотодинамической терапии опухолей». Обоснована эффективность новых флуорофоров для оптической медицинской визуализации, подтверждена их фотохимическая безопасность.

В целом диссертация Костюкова А.А, аккуратно оформлена и производит хорошее впечатление. Основные результаты работы достаточно полно отражены 9 публикациях в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК.

Работа производит положительное впечатление, но при ознакомлении с ней возникли следующие вопросы и замечания:

1. В экспериментальной части полностью отсутствует описание вычислительного эксперимента (докинга и классической молекулярной динамики).
2. Непонятна терминология «Разница в энергиях связывания (-8,8 ккал/моль для ЧСА и -10,2 ккал/моль для БСА) для различных режимов связывания и в геометрии лиганда, а также относительном расположении БКЦ1 внутри кармана» и далее в тексте. Что означает слово «режимы»?
3. Хотелось бы уточнить, что в понимании автора является неспецифической природой взаимодействия: «Для альбумина связывание имеет в основном неспецифическую природу, основанную главным образом на гидрофобных взаимодействиях». Какие примеры специфических взаимодействий можно привести для такого типа систем?
4. «Моделирование позволяет оценить расстояние между двумя ароматическими кольцами, которые взаимодействуют через  $\pi$ - $\pi$  стекнинг. Полученное значение равно 4,241 Å.» Исходя из последующего текста можно предположить, что речь идет о расстоянии между центроидами колец. Стоит ли указывать его с такой точностью? Каким методом получена описываемая структура?

Указанные замечания носят рекомендательный характер и не снижают общего положительного впечатления от работы.

Можно отметить, что диссертация А.А. Костюкова является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей значение для современных задач медицины и биологии. Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты, и свидетельствует о важном вкладе результатов диссертации в науку.

Считаю, что по уровню выполненных исследований, научной новизне и практической значимости рецензируемая диссертационная работа соответствует

требованиями ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациями (пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. (ред. от 01.10.2018, с изм. от 26.05.2020) и паспорту заявленной специальности 02.00.04 – Физическая химия, а ее автор Костюков Алексей Александрович **заслуживает** присуждения ему ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Официальный оппонент  
д.ф.м.н., профессор кафедры физической химии  
химического факультета МГУ

Хренова Мария Григорьевна

20 января 2021

Место работы: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова); кафедра физической химии.

Почтовый адрес 119991, ГСП-1, Москва Ленинские горы, МГУ имени М.В. Ломоносова, дом 1, строение 3, химический факультет, кафедра физической химии

e-mail [mkhrenova@lcc.chem.msu.ru](mailto:mkhrenova@lcc.chem.msu.ru)

телефон +7 (495) 939-20-35

