

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента  
на диссертационную работу Шахматова Владимира Викторовича  
«Фотохимические и фотофизические свойства производных гидрированных фууро- и  
тиенилхинолинов и их взаимодействие с тиминовыми основаниями ДНК»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук  
по специальности 1.4.4. Физическая химия**

**Актуальность темы диссертации.** Взаимодействия между органическими лигандами и нуклеиновыми кислотами и другими биологическими молекулами являются парадигмой развития перспективных структур при получении лекарственных препаратов, поскольку такие взаимодействия вызывают изменение физиологических функций нуклеиновой кислоты. Действительно, способ действия традиционных препаратов, нацеленных на опухоль, связан с их ассоциацией или химической реакцией с ДНК опухолевых клеток. Тем не менее, основным недостатком этого подхода по-прежнему является появление серьезных побочных эффектов препарата на здоровой ткани пациентов. Эти побочные эффекты могут быть уменьшены при применении лекарственных средств с пространственным и временным контролем. Для этой цели требуются химические соединения, связь которых с ДНК может быть вызвана внешним раздражителем. Применение света для индуцирования и контроля биоактивности для терапевтических целей было хорошо продемонстрировано в новых, актуальных областях оптикогенной и фотофармакологии. Диссертационное исследование Шахматова Владимира Викторовича проведено в области фотофармакологии и направлено на разработку препаратов для фотохимиотерапии называемый ПУВА-терапия. В диссертационной работе Шахматова В.В. работы направлены на изучение фотохимических и фотофизических свойств впервые синтезированных соединений, содержат в себе исследования химических реакций, оценку вклада триплетного состояния в механизм протекания и взаимодействия с тиминовыми основаниями ДНК, а также оценку темновой и фотоцитотоксичности. Поставленная в диссертационной работе задача является актуальной фундаментальной задачей, решение которой имеет огромное значение для практических целей, ведущее к разработке инновационных противораковых препаратов.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка сокращений и списка цитируемой литературы из 134 наименований. Диссертация изложена на 120 страницах и включает 2 таблицы, 12 схем и 49 рисунков.

Во **введении** представлена актуальность диссертационной работы, обосновано направление и структуры объектов исследования, определены задачи и цели исследовательской работы, представлена и обоснована научная новизна, а также практическая значимость и положения, выносимые на защиту.

В **литературном обзоре** рассмотрены вопросы медикаментозного воздействия на клетки кожи человека с применением метода ПУВА-терапии. Показаны данные о фотохимических и фотофизических свойствах псораленов, применяемых в химиотерапии кожных заболеваний, а также приведены характерные реакции их триплетных состояний, в том числе с основаниями ДНК, автором обращено внимание читателя на негативные эффекты, связанные с применением псораленов в медицине. И в этой связи, сформулирован запрос на поиск новых, более эффективных химических соединений для терапии кожных заболеваний по методу ПУВА. В заключении литературного обзора, автором предположено, что исследуемые им впервые синтезированные соединения являются перспективными и могут найти применение в химиотерапии кожных заболеваний.

Во **второй главе** содержатся сведения об исследуемых химических соединениях, процедуре их получения, а также применяемых в диссертационной работе аналитических методиках (например, спектрометрии, ВЭЖХ, импульсного и лазерного фотолиза, масс-спектрометрии), а также описан протокол исследования на темновую и фотоиндуцированную токсичность на примере культуральных клеток карциномы человека.

В **третьей главе** представлены результаты исследования спектральных свойств, описаны фотохимические и фотофизические свойства исследуемых соединений. Представлены спектрально-люминесцентные свойства исследуемых соединений. Методом стационарного фотолиза показано, что протекание химических реакций зависит как от структуры самих исследуемых соединений, так и от природы используемого растворителя, а также существенный вклад в протекание и направление химических реакций вносит наличие или отсутствие кислорода воздуха в анализируемой системе. Методами ВЭЖХ и масс-спектрометрии были идентифицированы продукты взаимодействия, а также предложены наиболее вероятные схемы и механизмы химических превращений. На основе изменения состава продуктов фотолиза при переходе от раствора, насыщенного кислородом воздуха, для которого характерно тушение триплетного состояния кислородом с образованием синглетного кислорода и активных форм кислорода к раствору, не содержащему кислород, сделан вывод о роли триплетных состояний в реакциях образования продуктов. В подтверждение полученных результатов,

было зарегистрировано образование короткоживущего интермедиата со спектром поглощения с  $\lambda_{\max} = 620\text{--}640$  нм и временем жизни  $\sim 200$  мкс исключительно в вакуумированных растворах, не зависимо от природы используемого растворителя. Для доказательства триплетной природы этого интермедиата были осуществлены эксперименты по триплет-триплетному переносу энергии, а также установлен диапазон низшего триплетного уровня исследуемого соединения. Зависимость гибели триплетного состояния от концентрации кислорода в реакционной системе хорошо описывается по реакциям второго и первого порядка. Показано, что в отсутствие кислорода происходит гибель триплетного состояния по реакции первого порядка и происходит в результате интеркомбинационной конверсии в основное состояние.

В четвертой главе представлены реакции взаимодействия исследуемых соединений с тиминовыми основаниями ДНК. Методом лазерного импульсного фотолиза показано, что константа скорости реакции триплетных состояний ФДГХ с тимидин 5'-монофосфатом (ТМР) близка по значению к диффузионной константе. Также было показано образование моноаддуктов в результате взаимодействия ФДГХ с ТМР и установлено, что указанный процесс конкурирует с  $T-T$  аннигиляцией и интеркомбинационной конверсией в основное состояние. Исключительно важно, что в результате взаимодействия ФДГХ с ТМР не происходит последовательного образования диаддуктов по двум двойным связям – фуранового кольца и азотсодержащего гетероцикла, механизмом образования которых обусловлена их фототоксичность на клетки кожи человека.

Эксперименты на культуральных клетках карциномы прямой кишки и молочной железы человека продемонстрировали отсутствие цитотоксичного эффекта исследуемых соединений в темновой фазе в концентрациях до 50 мкМ и ярко выраженную цитотоксичность (за исключением производного ФДГХ с нитро группой) в условиях облучения УФ-А светом.

В **Заключении** автор кратко суммирует основные результаты выполненной работы.

**Научная новизна и практическая значимость** диссертационной работы Шахматова Владимира Викторовича заключается в том, что:

- Исследованы спектрально-люминесцентные свойства новых производных гидрированных фуру- и тиенилхинолинов в различных растворителях.
- Показано образование возбужденного триплетного состояния и установлен диапазон его энергии. Также установлено, что возбужденные триплетные состояния фуродигидро- и фуротетрагидрохинолинов (ФДГХ, ФТГХ) играют определяющую роль в фотохимических

реакциях в различных растворителях, в том числе и в реакциях образования аминильных радикалов.

- Триплетные состояния ФДГХ реагируют с тиминовыми основаниями ДНК по механизму [2+2]-циклоприсоединения с образованием моноаддуктов без образования диадуктов.

- Исследованные соединения не обладают темновой цитотоксичностью в концентрациях до 50 мкМ, в тоже время, ФДГХ проявляют фотоцитотоксичность при облучении светом УФ-А диапазона, что позволяет предположить использование исследуемых соединений в качестве перспективных препаратов для ПУВА-терапии.

**Достоверность полученных результатов.** Достоверность и надежность полученных результатов исследования Шахматова Владимира Викторовича обусловлена применением современных физико-химических и аналитических методов анализа, например спектрофотометрии, флуориметрии, стационарного фотолиза, импульсного лампового и лазерного фотолиза, масс-спектрометрии, аналитической и препаративной ВЭЖХ, а также на согласованности результатов, полученных разными методами.

**Замечания по работе.** У оппонента нет замечаний, затрагивающих выводы работы и положения, составляющие научную новизну выполненного исследования. Однако, по работе можно сделать следующие замечания:

1. В диссертационной работе использованы различные физико-химические методы исследования соединений, однако, не все они описаны в Экспериментальной части. Например, не указаны использованные приборы для снятия ЯМР-, масс-, КД-спектров, тип прибора ВЭЖХ, не указаны используемые расчетные программы.

2. На рис. 3.10а представлена хроматограмма очень плохого качества, необходимо было дать пояснения.

3. В схемах 3.1 и 3.2 среди продуктов фотолиза указаны радикалы, однако, из текста следует, что радикальные частицы не являются конечными продуктами, а далее они образуют димер, что видимо, должно быть отражено на этих схемах.

4. Также было бы интересно знать выходы димерного продукта, продукта присоединения спирта в результате фотолиза, это позволило бы судить, насколько значимыми являются описанные фотоиндуцированные процессы.

5. Для изучения переноса триплетной энергии не понятно, как выбирались донорная и акцепторная компоненты. Должны ли уровни основных, возбужденных и триплетных состояний исследуемых соединений и донорных и акцепторных компонент иметь определенное взаимное расположения для реализации переноса энергии? Это не обсуждается в работе.

6. Из выводов к диссертационной работе следует, что при прямом возбуждении синтезированных соединений наблюдается образование триплетных состояний с высоким квантовым выходом. На чем основано это утверждение, ведь значения квантовых выходов образования триплетных состояний в работе не приводятся.

7. При изучении взаимодействия синтезированных соединений с тиминовыми основаниями и олигонуклеотидом следовало бы представить данные о том, как ведут себя сами биологические соединения в условиях фотолиза.

8. Можно ли в выводах к работе утверждать, что выделены продукты [2+2]-фотоциклоприсоединения синтезированных соединений с тиминовыми основаниями, если эти соединения не получены в нужном количестве и не охарактеризованы физико-химическими методами в индивидуальном виде?

9. В последнем выводе к работе указано, что все синтезированные соединения демонстрируют фотоцитотоксичный эффект. Необходимо было добавить, что это относится только к двум типам клеток: рака молочной железы MCF-7 и толстой кишки HCT116.

Высказанные замечания носят уточняющий характер и не опровергают результаты работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Шахматова Владимира Викторовича «Фотохимические и фотофизические свойства производных гидрированных фуру- и тиенилхинолинов и их взаимодействие с тиминовыми основаниями ДНК» актуальна и логически завершена. Объем и научный уровень выполненной соискателем работы позволяют охарактеризовать автора как квалифицированного специалиста в области физической химии. По материалам диссертации опубликовано 10 работ: из них 5 статей в российских журналах из списка ВАК, индексируемых в базах данных Web-of-Science и Scopus, и 5 публикаций в сборниках тезисов докладов научных конференций.

Выводы диссертации соответствуют основным результатам исследований. Содержание автореферата полно и точно отражает содержание диссертации.

Считаю, что диссертационная работа Шахматова Владимира Викторовича, в которой решена фундаментальная задача определения механизма химических реакций производных гидрированных фуру- и тиенилхинолинов с тиминовыми основаниями ДНК по своей актуальности, научной новизне, содержанию, степени обоснованности научных положений и выводов, достоверности полученных результатов, научной и практической значимости в полной мере соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24

сентября 2013 г. №842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 01 октября 2018 г. № 1168, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук и паспорту заявленной специальности 1.4.4. Физическая химия (п.7, 10), а соискатель рецензируемой работы Шахматов Владимир Викторович заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия.

Официальный оппонент

Доктор химических наук (1.4.3.)

Профессор (1.4.3.)

заместитель директора по научной работе,

заведующая лабораторией фотоактивных супрамолекулярных систем

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института

элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской

академии наук

 Ольга Анатольевна Фёдорова

30 сентября 2022

Почтовый адрес: 119334, г. Москва, ул. Вавилова, дом 28

Телефон: +7 (499) 135-92-02

Адрес электронной почты: fedorova@ineos.ac.ru

Место работы:

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

Подпись д.х.н., профессора Фёдоровой О.А. удостоверяю.

Ученый секретарь ИНЭОС РАН

 Гулагова Елена Николаевна

