

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.161.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТ
ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ИМ. А.Н.НЕСМЕЯНОВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 31 марта 2022 г. № 9

О присуждении Алпатовой Виктории Михайловне, гражданке РФ, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Карборановые конъюгаты с мезо-арилпорфиринами: синтез и свойства» по специальностям 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений и 1.4.9. – Биоорганическая химия принята к защите 24 января 2021 года (протокол заседания № 2) диссертационным советом 24.1.161.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук, 119991, ГСП-1, Москва, ул. Вавилова, 28, приказ о создании совета №105/НК от 11.04.2012 г.

Соискатель Алпатова Виктория Михайловна, 11 мая 1993 года рождения.

В 2016 году соискатель окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский технологический университет», г. Москва.

В 2020 году соискатель окончила программу подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет», г. Москва,

работает младшим научным сотрудником в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт

элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в Лаборатории тонкого органического синтеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии науки и на кафедре Химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет».

Научные руководители - кандидат химических наук, Ольшевская Валентина Антоновна, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук, Лаборатория тонкого органического синтеза, старший научный сотрудник;

доктор химических наук, Брагина Наталья Александровна, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет», профессор кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского.

Официальные оппоненты:

Мартынов Александр Германович, доктор химических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук, Лаборатория новых физико-химических проблем, ведущий научный сотрудник,

Жданов Андрей Петрович, кандидат химических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук, Лаборатория химии легких элементов и кластеров, старший научный сотрудник,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологически активных веществ Российской академии наук (г. Черноголовка) в своем положительном отзыве, подписанном Лермонтовым Сергеем Андреевичем, доктором химических наук, профессором, исполняющим обязанности директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ Российской академии наук», (заключение составлено Пушкаревым Виктором Евгеньевичем, доктором химических наук, заведующим Лабораторией фталоцианинов и их аналогов) указала, что диссертационная работа Алпатовой Виктории Михайловны полностью соответствует требованиям ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, установленным в п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года в действующей редакции, а ее автор, Алпатова Виктория Михайловна, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений и 1.4.9. – Биоорганическая химия. Работа Алпатовой В.М. может быть рекомендована к ознакомлению и использованию следующим научным и научно образовательным учреждениям: ФГБОУВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», ФГБОУВО «Ивановский государственный химико-технологический университет», ФГБУН «Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН», ФГБУН «Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН», ФГБУН «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН» и другие профильные исследовательские организации.

Соискатель имеет 7 опубликованных работ, индексируемых в международных базах данных (Scopus, Web of Science), в том числе по теме диссертации опубликовано 6 работ, из них в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, опубликовано 5 работ. Работы по теме диссертации включают 2 статьи в журналах 1 квартиля. Диссертационное исследование

представлено на 11 Всероссийских и международных конференциях. Опубликованные работы полностью отражают основные положения диссертационного исследования, в диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

Основные работы:

1. Ol'shevskaya V.A. Synthesis of sulfonamide derivatives of carboranyl porphyrins based on 5-(4-aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin and mercapto carboranes / V.A. Ol'shevskaya, V.M. Alpatova, N.V. Konovalova, E.G. Kononova, Y.A. Borisov, E.G. Rys, E.S. Kolotova, A.A. Shtil // *Macroheterocycles*. – 2018. – Vol. 11, № 3. – P. 251–256.
2. Ol'shevskaya V.A. Fluorinated derivatives of *meso*-(aminophenyl)porphyrins: Synthesis and some transformation / V.A. Ol'shevskaya, V.M. Alpatova, N.V. Konovalova, E.G. Kononova, E.G. Rys, N.A. Bragina // *J. Porphyr. Phthalocyanine*. – 2018. – Vol. 22, № 11. – P. 989–996.
3. Ol'shevskaya V.A. β -Maleimide substituted *meso*-arylporphyrins: Synthesis, transformations, physico-chemical and antitumor properties / V.A. Ol'shevskaya, V.M. Alpatova, A.S. Radchenko, A.A. Ramonova, A.S. Petrova, V.V. Tatarskiy, A.V. Zaitsev, E.G. Kononova, N.S. Ikonnikov, A.A. Kostyukov, A.E. Egorov, M.M. Moisenovich, V.A. Kuzmin, N.A. Bragina, A.A. Shtil // *Dyes Pigments*. – 2019. – Vol. 171. – P. 107760.
4. Ol'shevskaya V.A. Synthesis of maleimide-functionalized carboranes and their utility in Michael addition reactions / V.A. Ol'shevskaya, V.M. Alpatova, A.V. Makarenkov, E.G. Kononova, A.F. Smol'yakov, A.S. Peregudov, E.G. Rys // *New J. Chem.* – 2021. – Vol. 45. – P. 12159-12167.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от: 1. Горбуновой Т.И., д.х.н., ведущего научного сотрудника Лаборатории фторорганических соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского; 2. Гиричева Г.В., д.х.н., заведующего Кафедрой физики Федерального государственного бюджетного

образовательного учреждения высшего образования Ивановский государственный химико-технологический университет; 3. Куркина А.В., к.х.н., заведующего Лабораторией органического синтеза Химического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова; 4. Дубининой Т.В., к.х.н., старшего научного сотрудника лаборатории Медицинской химии, кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза Химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»; 5. Белых Д.В., д.х.н., старшего научного сотрудника, Институт химии Коми ФИЦ НЦ УрО РАН, 6. Козлова М.В., к.б.н., старшего научного сотрудника лаборатории Физико-химических проблем радиобиологии и экологии Института биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН.

Все отзывы положительные.

В отзывах указывается, что диссертационная работа Алпатовой В.М. выполнена по актуальной тематике, обладает высокой практической значимостью и научной новизной. В диссертационной работе осуществлена разработка эффективных подходов к синтезу конъюгатов мезо-аминоарилпорфиринов и β -аминозамещенных порфиринов с карборанами и изучение их свойств в качестве ФС для терапии злокачественных новообразований. Исследование является важным вкладом в химию карборановых производных порфиринов. Автор работы заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук специальностям 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений и 1.4.9. – Биоорганическая химия (химические науки).

В отзывах содержатся следующие замечания критического характера:

1) Известно большое количество примеров превращения соединений на основе *клозо*-карборана в соответствующие более полярные *нидо*-производные. В рамках настоящей работы удавалось ли получить в чистом виде *нидо*-карборанил-производные порфирина? Было бы интересно сравнить их

фотохимические и биологические свойства со свойствами *клозо*-производных, описанных в работе.

2) Чем можно объяснить различия в фототоксичности карборанил-производных порфиринов **60** и **63**?

3) Насколько устойчивыми являются соединений **65** и **66**, представленные на схеме 10? Аминоэфир, полученные из природных аминокислот, известны своей склонностью к образованию соответствующих пиперазин-2,5-дионов.

4) Чем обусловлен выбор цинка и никеля в качестве центральных ионов? Выбор цинка понятен с точки зрения увеличения выхода генерации синглетного кислорода, а чем был обусловлен выбор никеля?

5) Соединение **53**, также, как и **60** проявляет микромолярную фотоцитотоксичность, имеет ли смысл в дальнейшем изучать его свойства или предполагается модифицировать структуру **53** дальше?

6) Планируется ли определять применимость соединения **60** для БНЗТ?

7) В работе имеются некоторые неясности при описании условий проведенных реакций. Не совсем понятно, из каких соображений указана температура проведения реакций, которые совпадают с температурой кипения растворителя (схемы 7, 8, 9). Указывать температуру кипения растворителя неверно, так как раствор кипит при более высокой температуре, чем растворитель, и температура кипения задается составом раствора.

8) На стр. 16 автор пишет: «Измерения квантовых выходов синглетного кислорода проводились при высоких концентрациях кислорода в растворах; все триплетные состояния порфиринов передают энергию синглетному кислороду». Какая именно была концентрация? Какие концентрации считаются «высокими» или «низкими»?

9) На стр. 17 автор пишет: «Сульфонамидный карборанилпорфирин **25** показал низкую темную цитотоксичность в отношении линии НСТ116, поэтому может быть перспективными в дальнейших исследованиях как противораковый препарат-кандидат для ФДТ». Необходимо отметить, что, прежде чем делать такой вывод, этот результат необходимо дополнить данными по

фототоксичности. Низкая темновая цитотоксичность может быть обусловлена, например, высокой гидрофобностью, что может не позволить соединению оказать токсический эффект как в темновых условиях, так и при освещении.

10) Уточняющий вопрос по разделу 4.3. Автор пишет: «Для оценки механизмов фотоиндуцированной гибели использовали соединение **60**. Генерация активных форм кислорода карборанилпорфирином **60** обнаружена в бесклеточной системе (Таблица 1); функционирует ли этот механизм при освещении клеток, нагруженных этим соединением? Использованы зонды MitoSOX Red для внутриклеточной визуализации $O_2^{\cdot-}$ и MitoTrackerCMXRos Red, чувствительный к трансмембранному электрическому потенциалу митохондрий». В таблице 1 представлены только результаты изучения фотогенерации синглетного кислорода. Не совсем понятно, почему в клетках изучается супероксиданионрадикал? Он тоже генерируется порфирином или является вторичным окислителем? И каков ответ на вопрос, сформулированный в начале раздела «функционирует ли этот механизм при освещении клеток, нагруженных этим соединением?».

11) Можно ли сделать предположение о внутриклеточном транспорте карборанилпорфирина **60** в комплексе с белком?

12) Каким образом можно объяснить, что фотодинамическая эффективность для ряда полученных конъюгатов в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии на опухолевых клетках *in vitro* повышена по сравнению с неборированными аналогами?

13) Рекомендовано прокомментировать спектр поглощения и условия регистрации спектра флуоресценции лидерного карборанилпорфирина **60**, поскольку это обосновывает условия проведения физико-химических и клеточных экспериментов.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что д.х.н. Мартынов А.Г. является крупным специалистом в области биоорганической химии, в том числе в области синтеза и исследований полифункциональных производных тетрапиррольных соединений, их металлокомплексов, и

создание на их основе компонентов новых супрамолекулярных и гибридных материалов с управляемыми свойствами, а к.х.н. Жданов А.П. – крупный специалист в области химии элементоорганических соединений, в том числе в синтезе, исследовании строения и свойств функциональных производных кластерных анионов бора. Выбор ведущей организации обоснован тем, что в Институте физиологически активных веществ Российской академии наук проводятся исследования по синтезу и дизайну химических соединений и материалов на основе тетрапиррольных макроциклических соединений и их металлокомплексов, изучению их строения, физико-химических и фотофизических свойств для медицинского и технического назначения.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны эффективные подходы к синтезу карборанилпорфиринов, содержащих фармакофорные сульфонамидные, фторсодержащие, малеимидные и сукцинимидные группы, основанные на модификации аминогрупп *мезо*-аминоарилпорфиринов и β -аминозамещенных порфиринов функционально замещенными карборанами,

доказана перспективность использования полученных карборанилпорфиринов и их металлокомплексов в качестве фотосенсибилизаторов для ФДТ.

установлено, что конъюгаты *мезо*-арилпорфиринов с карборанами образуют стабильные комплексы с альбумином, основным переносчиком лекарств в организме, что может служить для адресной доставки молекул лекарственных препаратов,

предложены методы синтеза функционально замещенных карборанов, прекурсоров для одностадийного формирования фармакофорных групп и введения карборана в тетрапиррольный макроцикл,

исследована биологическая активность *in vitro* полученных соединений.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что совокупность результатов исследования вносит фундаментальный вклад в решение актуальной проблемы поиска новых

соединений для бинарных противоопухолевых стратегий, таких как ФДТ и БНЗТ, **изложены** спектральные свойства полученных соединений, показано, что они имеют высокие выходы генерации синглетного кислорода, низкую темновую токсичность и высокую фотодинамическую эффективность, что делает их перспективными противоопухолевыми соединениями для использования в ФДТ.

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

разработаны эффективные методы функционализации *мезо*- и β -аминозамещенных порфиринов различными биологически активными фармакофорными группами и карборанами, **установлено**, что ряд синтезированных соединений проявляют свойства фотосенсибилизаторов для противоопухолевой фотодинамической терапии, что было подтверждено исследованиями *in vitro*. Полученные результаты указывают на перспективность их дальнейшего изучения в качестве противоопухолевых препаратов для фотодинамической терапии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ были использованы современные методы физико-химического анализа (электронная, ИК-, ЯМР ^1H , ^{11}B , ^{19}F , спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения), экспериментальные данные были получены на сертифицированном оборудовании, согласуются с литературными исследованиями и являются полностью достоверными;

теория построена на известных, проверяемых фактах, полученных экспериментальных зависимостях и соответствует современным представлениям в научной литературе по теме диссертации;

идея базируется на анализе большого числа публикаций, посвященных методикам синтеза аминопроизводных *мезо*-арилпорфиринов и карборанилпорфиринов, который был проведен в литературном обзоре;

использованы известные подходы к синтезу, методы обработки и анализа экспериментальных данных, которые соответствуют решаемым задачам;

установлено качественное соответствие результатов автора с данными, приведенными в независимых источниках по данной теме.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования: от постановки задач исследования и разработки методов синтеза до проведения синтетической работы, анализа и публикации результатов.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

- 1) Вы сказали, что использовали фторсодержащие компоненты с целью повышения активности, а не в том ли дело, что нужно было активировать соответствующий компонент в реакции? Пробовали ли Вы вводить какие-то векторные заместители, чтобы добиться селективности? Делали вы какие-то предварительные тестирования, например по правилу Липински, перед тестированием биологии?
- 2) В работе просматривается 2 серии соединений: металлсодержащие и свободные от металла. В чем разница между такими группами соединений, то есть, какой эффект дает металлизирование, и в чем он проявляется.
- 3) Вы исследуете фотофизические свойства, квантовый выход и время жизни. А какие вообще требования к соединениям, которые должны применяться в определенной области по фотофизическим параметрам.
- 4) В чем отличия и преимущества Ваших соединений по сравнению другими. Судя по таблице, на квантовый выход синглетного кислорода введение карборана значительно не влияет.
- 5) Вопрос о распределении фторсодержащих веществ, к Вам не обращались ЯМР-спектроскописты, чтобы посмотреть, что делается с этими соединениями, где они находятся, наверно, была бы интересная информация.
- 6) Насколько совместимы соединения **33** и **44** с гидридом натрия, в полученных продуктах не наблюдается *нидо*-карборана?
- 7) Каким способом вводились эти соединения в клетки и растворимы ли они в воде. Как можно посмотреть накопление в клетках, какой метод используется.

Соискатель Алпатова В.М. ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

1) Фторсодержащие соединения получали, чтобы получить более активные соединения, а не активировать соответствующий компонент. В качестве векторной группы в работе рассмотрены малеимиды, обладающие способностью селективно связываться с тиольными остатками в биологических субстратах. Дополнительные первоначальные тестирования по правилу Липински не проводили и транспорт через мембрану не изучали, сразу делали МТТ тест.

2) Введение металла в координационную сферу, например, цинка, значительно уменьшает гидрофобность, и как правило, увеличивает квантовый выход синглетного кислорода и может повлиять на локализацию вещества в клетке. Есть данные, что металлокомплексы никеля обладают способностью связываться с ДНК.

3) Квантовые выходы синглетного кислорода, представленные здесь довольно высокие (квантовый выход больше 50% - уже высокий), есть ряд ФС, которые применяются сейчас и имеют 20-30% выход, это считается достаточным.

4) В таблице именно карборансодержащий порфирин **63** имеет почти самый высокий выход синглетного кислорода. Мы получали карборановые конъюгаты, потому что ранее было показано, что введение карборанов увеличивает фотодинамическую активность, что мы тут и видим – наиболее фотоактивный конъюгат именно **60** с карбораном. У полученных соединений более высокие выходы синглетного кислорода по сравнению с некоторыми применяющимися сейчас соединениями.

5) ЯМР-спектроскописты к нам не обращались, но я согласна, что информация была бы интересная.

6) Гидрид натрия не приводит к образованию *нидо*-формы, на выходе продукта это не сказывается, там практически количественный выход.

7) Готовились растворы соединений в ДМСО, далее разводили водой, получался раствор порфиринов в низких микромолярных концентрациях уже «как бы в воде», и затем их наносили на клетки. Методом конфокальной микроскопии показано, что они входят в клетки.

На заседании 31 марта 2022 г. диссертационный совет принял решение за решение научной задачи в области синтеза биологически активных конъюгатов *мезо*-аминоарилпорфиринов и β -аминозамещенных порфиринов с карборанами, вносящие значительный вклад в развитие элементоорганической и биоорганической химии присудить Алпатовой В.М. ученую степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 24 человек, из них 9 докторов наук по специальности 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений и 3 доктора наук, приглашенных на разовую защиту, по специальности 1.4.9. – Биоорганическая химия, участвовавших в заседании, из 31 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 – человека, проголосовали: за – 23, против – 0, недействительных бюллетеней – 1.

Заместитель председателя
Диссертационного совета 24.1.161.01.
д.х.н.




Любимов Сергей Евгеньевич

Ученый секретарь
Диссертационного совета 24.1.61.01
д.х.н.


Белкова Наталия Викторовна

31 марта 2022 г.