

Отзыв официального оппонента
на диссертацию
Ефимовой Инессы Андреевны
«Порфирилаты фосфора(V) для биомедицинских применений»,
представленной на соискание учёной степени кандидата химических наук
по научным специальностям
1.4.4 – Физическая химия и 1.4.1 – Неорганическая химия

Актуальность темы исследования

Порфирины и их производные представляют собой важный класс тетрапиррольных соединений, что связано с их фундаментальной ролью в природных биокаталитических процессах и процессах генерации и переноса энергии, а также с широкими возможностями направленного изменения их физико-химических свойств. Особый интерес представляют порфириновые системы для биомедицинских применений, в первую очередь в качестве фотосенсибилизаторов фотодинамической терапии и флуоресцентных диагностических агентов. При этом для практического использования таких соединений принципиальное значение имеют их растворимость в водных средах, устойчивость, характер поглощения и люминесценции, способность генерировать активные формы кислорода, а также возможность управления этими свойствами за счёт структурной модификации молекулы.

Одним из перспективных подходов является введение атома фосфора(V) в порфириновый макроцикл. Такой способ позволяет получать катионные водорастворимые комплексы без обязательного введения большого числа гидрофильных заместителей на периферию порфирина. Кроме того, наличие аксиальных лигандов при атоме P(V) создаёт дополнительную возможность регулирования фотофизических и фотохимических характеристик соединений. Несмотря на известные примеры порфирилатов фосфора(V), закономерности влияния природы мезо-заместителей и аксиальных лигандов на их реакционную способность, спектральные свойства, генерацию синглетного кислорода и биологическую активность остаются недостаточно изученными.

В связи с этим диссертационная работа И.А. Ефимовой, посвящённая разработке методов получения водорастворимых порфирилатов фосфора(V), установлению взаимосвязи между их строением и оптическими, фотофизическими, фотохимическими и цитотоксическими свойствами, а также исследованию pH-зависимого поведения и дефосфорилирования в биологических средах, является актуальной как с точки зрения фундаментальной физической и неорганической химии, так и в контексте создания новых функциональных соединений для биомедицинских применений.

Общая структура и апробация работы

Диссертация изложена на 195 страницах, содержит 70 рисунков, 28 схем и 13 таблиц; список литературы включает 313 источников. Работа состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы.

Основные результаты опубликованы в 3 статьях и представлены в 8 докладах на российских и международных конференциях.

Литературный обзор

Литературный обзор выполнен на хорошем уровне и охватывает широкий круг вопросов, связанных с синтезом, физико-химическими свойствами и биомедицинским применением порфиринов и их комплексов. Автором систематизирован значительный объём литературных данных, материал удобно структурирован, в том числе с использованием обобщающих таблиц, что облегчает сопоставление различных классов соединений и подходов.

Из недостатков можно отметить, что сравнительно мало внимания уделено именно иммунологическим последствиям ФДТ и формированию противоопухолевого иммунного ответа в результате фотодинамического воздействия. Учитывая современный интерес к иммуногенным механизмам клеточной гибели при ФДТ, этот аспект мог бы быть представлен несколько подробнее.

Научная новизна

Диссертационное исследование посвящено сравнительно малоизученному классу соединений – порфиринам фосфора(V). В отличие от традиционных металлопорфиринов, введение P(V) в полость макроцикла позволяет получать катионные водорастворимые комплексы, свойства которых могут дополнительно регулироваться как изменением заместителей в порфириновом макроцикле, так и природой аксиальных лигандов. Несмотря на известные примеры таких соединений, к началу работы систематические данные о взаимосвязи их строения, фотофизических, фотохимических и биологических свойств были достаточно ограничены. В связи с этим работа И.А. Ефимовой выполнена в актуальной и сравнительно малоразработанной области химии порфиринов.

В ходе работы получена широкая серия порфиринов фосфора(V), содержащих мезо-заместители различной электронной природы и разные аксиальные лиганды. Автором впервые получены диэтокси-порфириноваты с *n*-цианофенильными и *n*-карбоксиметилфенильными заместителями, а также порфириноваты с *n*-аминофенольными аксиальными лигандами. Оптимизированы условия введения P(V) в порфириновый макроцикл и показано, что увеличение электронодонорного характера мезо-заместителей позволяет уменьшить избыток POBr_3 и продолжительность реакции.

Для полученных соединений систематически изучено влияние мезо-заместителей и аксиальных лигандов на оптические и фотохимические свойства. Показано, что электронодонорные мезо-заместители способствуют батохромному смещению полос

поглощения и эмиссии, а природа аксиальных групп существенно влияет на эффективность генерации синглетного кислорода и фотостабильность соединений.

Отдельно следует отметить получение порфиринов с *n*-аминофенольными аксиальными лигандами, для которых продемонстрировано рН-зависимое переключение фотофизических и фотохимических свойств. В основной форме перенос заряда с электронодонорного аксиального лиганда приводит к практически полному тушению флуоресценции и генерации синглетного кислорода, тогда как при протонировании эти процессы частично восстанавливаются. Таким образом, показана принципиальная возможность управления свойствами порфиринов P(V) внешним химическим стимулом.

Важной частью работы является систематическое исследование ранее малоизученного процесса дефосфорилирования порфиринов P(V) в биологическом окружении. Показано, что устойчивость комплексов к этому процессу существенно определяется природой аксиальных лигандов: соединения с -ОН-группами дефосфорилируются в присутствии сывороточных белков и в клетках, тогда как диэтокси-производные сохраняют устойчивость. Полученные данные позволили автору рассмотреть дефосфорилирование как возможный способ внутриклеточного высвобождения плохо растворимых свободных оснований порфиринов.

Для серии комплексов установлена зависимость световой и темновой цитотоксичности от их строения. Наиболее активные диэтоксипорфирины проявляют наномолярную и в отдельных случаях пикомолярную фотоцитотоксичность в отношении клеток A-549 и MCF-7. Автор впервые для порфиринов P(V) показана наномолярная фотоцитотоксичность при облучении красным светом. Кроме того, исследованы особенности их темнового действия и предложены возможные механизмы клеточной гибели, включающие повреждение мембраны и дыхательной цепи, а при облучении – дополнительную генерацию АФК с последующим развитием апоптоза или некроза.

Таким образом, основным результатом работы можно считать установление взаимосвязей «строение – физико-химические свойства – биологическая активность» для серии порфиринов фосфора(V) и демонстрацию возможности направленного регулирования их свойств посредством изменения мезо-заместителей, аксиальных лигандов и кислотности среды.

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием комплекса современных физико-химических методов исследования: электронной и флуоресцентной спектроскопии, ЯМР-спектроскопии (включая ^{31}P -спектроскопию), MALDI-TOF и HR-ESI масс-спектрометрии, циклической вольтамперометрии. Кроме этого, полученные данные согласуются между собой и с литературными сведениями. Биологические свойства исследованы с применением стандартных методов клеточной биологии, включая МТТ-тест и проточную цитометрию.

Практическая значимость работы заключается в разработке и оптимизации подходов к получению водорастворимых порфиринов фосфора(V) с регулируемыми фотофизическими и фотохимическими свойствами. Полученные соединения представляют интерес как потенциальные фотосенсибилизаторы для ФДТ и флуоресцентные рН-чувствительные системы. Показанная способность отдельных комплексов к дефосфорилированию в биологической среде также может быть использована как подход к внутриклеточной доставке плохо растворимых свободных оснований порфиринов.

Диссертационное исследование И.А. Ефимовой выполнено на высоком экспериментальном уровне, полученные результаты хорошо обоснованы и подтверждены комплексом современных физико-химических и биологических методов. Существенных замечаний, ставящих под сомнение основные результаты и выводы работы, нет. Вместе с тем по содержанию диссертации возникает ряд вопросов, а также имеются отдельные замечания, преимущественно редакционного характера.

Вопросы

1. В табл. 4 выходы комплексов *trans*- и *cis*-дипиридинных порфиринов заметно различаются при близких условиях синтеза. Чем это обусловлено: различной реакционной способностью макроциклов или особенностями стабильности, выделения и очистки продуктов?
2. На схеме 21 промежуточный дибромпорфиринат P(V), образующийся из порфирина 12, быстро разрушается. Какой процесс подразумевается под разрушением и с чем автор связывает такую нестабильность?
3. При получении 13-OEt образуется побочный продукт 13-OEt+Br. Каков предполагаемый механизм бромирования порфиринового макроцикла?
4. Можно ли на основе исследованных порфиринов P(V) создать фотосенсибилизатор для ФДТ, активируемый непосредственно условиями опухолевого микроокружения, например за счёт рН-триггера? Какие структурные изменения для этого потребуются?
5. Почему после протонирования *n*-аминофенольных аксиальных лигандов генерация синглетного кислорода восстанавливается лишь частично и остаётся значительно ниже, чем для диэтоксипорфиринов? Какие дополнительные пути релаксации могут реализовываться?
6. Насколько чувствительность предложенных рН-сенсоров сопоставима с современными литературными аналогами? Достаточны ли наблюдаемые спектральные изменения для практического применения?
7. Механизм дефосфорилирования порфиринов P(V) в присутствии белков остаётся не вполне ясным. Автор предполагает взаимодействие аксиальных

ОН-групп с белками и возможное участие фосфатаз. При этом на схеме 24 показано, что взаимодействие дихлорпорфирина $P(V)$ с нуклеофильным *n*-аминофенолом приводит не к замещению аксиальных лигандов, а к разрушению комплекса с высвобождением свободного основания. Может ли это указывать на участие нуклеофильных групп белков в дефосфорилировании? Может ли порфиринат $P(V)$ быть субстратом фосфатаз, чем объясняется различное поведение -ОН- и -OPrОН-производных и какие эксперименты позволили бы различить возможные механизмы и исключить вклад агрегации при длительной инкубации (двое суток)?

8. Для ряда исследованных порфиринов наблюдается выраженная темновая цитотоксичность, в некоторых случаях в наномолярном диапазоне, а также признаки образования АФК и повреждения клеточной мембраны без облучения. Насколько такие свойства соответствуют требованиям к фотосенсибилизаторам для ФДТ, одним из преимуществ которых считается низкая темновая токсичность? Следует ли в данном случае рассматривать наиболее активные порфирины скорее как соединения комбинированного фото- и цитотоксического действия? Исследовалась ли селективность их темновой токсичности по отношению к нормальным клеткам?
9. Почему комплексы 7-OEt и 8-OEt проявляют высокую фотоцитотоксичность при облучении источником с максимумом 660 нм, если их длинноволновые полосы поглощения лежат преимущественно около 605-615 нм? Каков вклад более коротковолновой части спектра источника в наблюдаемый эффект?
10. В экспериментальной части для соединения 2-OEt указано: HR-ESI MS *m/z* эксп. 734.4825, расч. 734.2679 [(M-Br)+]. Расхождение около 0.215 Да (~292 ppm) слишком велико для HRMS, является ли данное расхождение опечаткой или вызвано другими причинами?

Замечания

1. В ряде синтетических схем отсутствуют выходы продуктов и/или полные условия проведения реакций, включая количества реагентов, температуру и время. Например, такая информация не полностью представлена на схемах 22, 25 и 26, что несколько затрудняет восприятие и сопоставление синтетических подходов.
2. На стр. 63 использовано выражение «вездесущий патоген *Streptococcus pyogenes*», которое представляется не вполне уместным для научного текста; более корректно было бы использовать, например, «широко распространённый патоген».
3. В тексте неоднократно повторно расшифровываются уже введённые ранее аббревиатуры, что несколько перегружает изложение. После первого определения сокращения целесообразно далее использовать его без повторной расшифровки.

4. В выводе 4 диссертации и автореферата по всей видимости перепутаны клеточные линии: А-549 ошибочно отнесена к аденокарциноме молочной железы, а МСF-7 - к аденокарциноме лёгкого. В основном тексте работы принадлежность линий указана правильно.

Заключение

В ходе диссертационного исследования И.А. Ефимовой проведено комплексное изучения порфиринов фосфора(V), включающее разработку и оптимизацию методов их синтеза, изучение взаимосвязи строения с фотофизическими, фотохимическими и электрохимическими свойствами, а также исследование процессов дефосфорилирования и биологической активности полученных соединений.

По теме диссертации опубликовано 3 статьи в профильных научных журналах, результаты работы представлены в 8 тезисах докладов на российских и международных конференциях. Опубликованные работы и автореферат в полной мере отражают основное содержание диссертационного исследования.

Основываясь на вышесказанном, считаю, что диссертационная работа И.А. Ефимовой «Порфирины фосфора(V) для биомедицинских применений» по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости соответствует требованиям пунктов 9-14 Положения «О присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по научным специальностям 1.4.4 – Физическая химия и 1.4.1 – Неорганическая химия.

Официальный оппонент:

Доцент кафедры органической химии химического факультета Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, к.х.н.

ПОДПИСЬ УДОСТОВЕРЯЮ

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА УЧЕБНО-НАУЧНОЙ РАБОТЫ
ННГУ им. Н.И. Лобачевского



Василий Федорович Отвагин

16 сентября 2026 г.

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
02.00.03 – «органическая химия»

Место работы и контактные данные:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный

университет им. Н.И. Лобачевского», 603950, Российская Федерация, г. Нижний Новгород, проспект Гагарина, 23, к. 2, лаборатория 430.

Телефон: 8-920-252-83-87

Адрес электронной почты: votvagin@yandex.ru