

ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе
Ефимовой Инессы Андреевны тему «
«ПОРФИРИНАТЫ ФОСФОРА(V) ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ»,
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по
специальностям 1.4.4 – Физическая химия и 1.4.1- Неорганическая химия.

Макроциклические соединения порфиринового типа играют фундаментальную роль в биохимических процессах фотосинтеза (хлорофилл), переноса кислорода (гем) и являются основой важнейших ферментных систем. Сочетание уникальных спектральных и координационных свойств порфиринов, является мощным стимулом, для получения и изучения их синтетических аналогов, а также перспектив их использования в различных областях. В последнее время особенно активно исследуются возможности применения синтетических порфиринов в биомедицинских приложениях – как в диагностике заболеваний (визуализация), так и в терапии различных заболеваний. При этом наряду со свободными порфиринами и их металлокомплексами возрастающий интерес вызывают их производные, содержащие в координационном центре неметаллы или металлоиды (бор, кремний, фосфор). Хотя в природных порфиринах такие производные не встречаются, многие их синтетические представители, на основе тетрапиррольных макроциклов (порфиринов, порфиразинов, фталоцианинов, а также их сокращенных аналогов – корролов и корролазинов) показали наличие выдающихся спектрально-люминесцентных и фотохимических характеристик, открывающих перспективы их использования в качестве эффективных фотосенсибилизаторов, а также для флуоресцентной визуализации опухолей. В связи с этим **цель** рассматриваемой работы – разработка методов синтеза новых водорастворимых порфиринатов фосфора(V), выявление зависимости их фотофизических, фотохимических и цитотоксических свойств от особенностей их строения и свойств среды является весьма **актуальной и практически значимой**.

Диссертационная работа И. А. Ефимовой представлена на 195 страницах и состоит из Введения, 3 глав, выводов и списка литературы (313 источников). Диссертация проиллюстрирована 70 рисунками и 27 схемами, литературные и полученные данные представлены в 13 таблицах.

Во введении (6 стр.) сформулирована актуальность темы диссертации, поставлены цели и задачи, сформулированы положения, выносимые на защиту, отражена научная новизна и практическая значимость полученных результатов и личный вклад автора.

Первая глава диссертации (64 стр.) представляет собой *Обзор литературы*, охватывающий 300 работ, опубликованные с 1937 по 2025 гг,

В нем обобщены известные подходы к получению мезо- и в-замещенных порфириновых макроциклов симметричного и несимметричного строения, их гидрофильных и

водорастворимых производных анионного и катионного типов, содержащих сульфокарбокси- или кватернизированных пиридилные группы, а также конъюгатов с углеводами и нуклеотидами, пептидами и белками. Кратко рассмотрено получение металлопорфиринов, комплексов с фосфором(V) и их аксиальная модификация. Представлены данные по теории спектрально-люминесцентных свойств порфиринов и их фотосенсибилизирующим свойствам. Автором заинтересованно приводятся известные примеры применения порфиринов в медицине как при диагностике заболеваний (магнитно-резонансная и позитронно-эмиссионная томография, флуоресцентная и фото-акустическая визуализация), так и в терапии (противоопухолевой и антибактериальной фотодинамической, фототермической, сонодинамической, фотоиммунотерапии).

В заключении литобзора отмечается, что среди всего разнообразия производных порфиринов одними из наиболее перспективных и малоизученных объектов являются катионные водорастворимые комплексы фосфора(V), что позволяет автору сформулировать цель диссертационной работы как *получение серии водорастворимых порфиринов фосфора(V) и выявление зависимости их фотохимических, фотофизических и цитотоксических свойств от особенностей их строения и среды.*

Вторая глава (57 стр.) представляет *Обсуждение результатов* диссертационной работы и состоит из 7 подразделов. В разделе 3.1 рассмотрен синтез новых порфиринов фосфора(V) как на основе мезо-замещенных порфиринов как несимметричного строения за счет сочетания мезо-фенильных и мезо-пиридилных групп, так и симметричных производных с мезо-арильными группами, содержащими как донорные, так и акцепторные заместители (п-толил, 4-метокси-, 4-метоксикарбонил, 4-трет-бутил-, мезитил-, 4-циано-). Интересным наблюдением являются обнаруженная неустойчивость комплекса с акцепторными перфторфенильными группами, а также побочная реакция бромирования мезитилзамещенного которые не позволили получить их аксиальные комплексы с этоксигруппами. В диссертации изучена также аксиальная модификация порфиринов фосфора(V) за счет введения гидроксигрупп, алкоксигрупп и арилоксигрупп. Соединения, содержащие одинаковые аксиальные лиганды были надежно охарактеризованы методами ^1H , ^{13}C , ^{31}P ЯМР спектроскопии, ЭСП, и некоторые из них масс-спектрами ESI высокого разрешения.

В разделе 3.2 кратко представлены результаты исследования спектрально-люминесцентных свойств полученных в работе порфиринов фосфора(V) с одинаковыми аксиальными группами. Наряду со спектрами флуоресценции и поглощения стоило бы проанализировать и спектры возбуждения флуоресценции. Очень интересные данные по влиянию кислотности водных растворов на спектрально-люминесцентные свойства комплексов, содержащих две гидроксигруппы и/или мезо-пиридилную группу или аксиальные 4-аминофеноксидные лиганды анализируются в

разделе 3.3. Показана зависимость максимума и интенсивности флуоресценции от pH среды, в то время как спектры поглощения меняются мало. Примечательно, что в анионных формах, образующихся при кислотной диссоциации фосфонатного центра наблюдается гипсохромный сдвиг максимума флуоресценции. При этом для бисгидроксипроизводных не наблюдается тушения флуоресценции за счет эффекта фотоиндуцированного переноса электронов с отрицательно заряженного кислорода в анионной форме на макроцикл, как это наблюдалось для порфиразинов и корролазинов, напротив она может даже разгораться. В тоже время для 4-аминофенокси производных флуоресценция полностью тушится и разгорается при протонировании аминогрупп. Этот эффект может быть использован для управления флуоресцентными и фотофизическими свойствами.

В разделе 3.4 обсуждаются данные по способности полученных комплексов фосфора(V) к генерации синглетного кислорода. Катионные формы оказались эффективными фотосенсибилизаторами ($\Phi(102)$ до 87%) и при отсутствии акцепторных групп отличаются высокой фотоустойчивостью. Наличие 4-аминофеноксидных лигандов выключает способность к генерации 102 , однако при протонировании аминогрупп $\Phi(102)$ возрастает до 20%. Интересно было бы посмотреть, как меняются фотосенсибилизирующие свойства для нейтральных и анионных форм дигидроксидных комплексов.

В разделе 3.5 рассмотрены электрохимические свойства катионных комплексов с аксиальными этоксигруппами, изученные методами ЦВА и спектроскопией. Показано, что они очень легко восстанавливаются, особенно при наличии акцепторных пиридинных групп в мезо-положениях (при -0.16 В). В разделе 3.6 представлены очень интересные данные по взаимодействию порфиринов фосфора(V) с белками. На основании исследования спектров флуоресценции обнаружено, что дигидроксидные комплексы подвергаются реакции дефосфорилирования в присутствии БСА или клеточной среде с образованием свободных оснований порфиринов. Это очень важное свойство, которое может быть использовано для их доставки в клетки и для визуализации клеточных структур.

Заключительный раздел 3.7 представляет результаты детальных биологических исследований порфиринов фосфора(V) на клетках аденокарциномы молочной железы и легких. Установлено, что фототоксический эффект диэтоксидных комплексов с донорными арильными группами в мезо-положениях превышает эффект фталоцианинового фотосенсибилизатора Фотосенс® используемого в клинической практике. Интересно, что и в темновых условиях проявляется цитотоксический эффект, хотя и меньший. При изучении механизма гибели клеток, была выявлена роль активных форм кислорода, которые в темновых условиях, как предполагается, могут

генерироваться за счет высокой восстановительной активности комплексов. Выявлен необычный эффект гипоксически-активируемой цитотоксичности в темновых условиях.

Экспериментальную часть диссертации изложена на 18 страницах. В ней приведены сведения об оборудовании и методиках исследования, использованных в работе, об исходных коммерчески доступных соединениях, а также подробно описан синтез и спектральные характеристики как 6 порфиринов и 17 их комплексов с фосфором. Все новые соединения были надежно охарактеризованы методами ЯМР (^1H , ^{13}C , ^{31}P), а некоторые также масс-спектрометрии (HRMS-ESI), и электронными спектрами поглощения. Все это подтверждает надежность и **достоверность представленных данных**. В этой же главе приведены подробные методики, использованные при изучении фотофизических и цитотоксических свойств.

В заключительном разделе сформулированы основные Выводы и обобщены результаты, представленные в диссертационной работе.

В целом диссертация по объему выполненной синтетической работы, достоверности представленных результатов, степени их обнародования в рецензируемых научных журналах и на конференциях отвечает общепринятым требованиям к научно-квалификационным работам на учёную степень кандидата наук. Автореферат диссертации даёт полное представление о её содержании. Полученные результаты представлялись И.А. Ефимовой в 8 докладах на конференциях различного уровня, а три экспериментальных статьи в рецензируемых отечественных и престижных международных журналах (в т.ч. в Dalton Transactions, Q1), которые представлены в списке публикаций автора диссертации, достаточно полно обнародуют полученные данные.

Диссертация логично написана и хорошо оформлена. При ее прочтении возникли некоторые вопросы и замечания, которые не затрагивают существа полученных результатов и сделанных выводов:

Раздел 2.1.2 литобзора, посвященный конъюгатам на основе порфиринов, представляется излишним в контексте поставленной задачи исследования, однако в диссертации эти соединения не рассматриваются...

- 1) Одной из целей диссертации являлось получение водорастворимых порфиринов фосфора. Как оценивалась растворимость, какая у нее величина и зависимость от типа аксиальных лигандов, от заместителей в мезо-положениях (особенно от числа пиридинных групп)? Часто для получения водорастворимых производных используется кватернизация пиридилпорфиринов. Она могла бы еще более увеличить растворимость. Проводились ли такие исследования?

- 2) Стр. 30, 31. Есть некоторая путаница (рис 4.) в представлении 4-орбитальной модели Гоутермана между понятием о молекулярных орбиталях и электронных уровнях (состояниях) молекул порфиринов, включая обозначение их симметрии по теории групп. И Q и В полосы и соответствующие им состояния связаны с электронными переходами с ВЗМО и ВЗМО-1 на две низшие вакантные МО (НСМО), которые в случае комплексов с симметрией D_{4h} вырождены. Поэтому повышение симметрии в комплексах фосфора на самом деле не «..приводит к снятию вырождения НСМО» (стр. 31), а наоборот к их вырождению. Перпендикулярно поляризованные переходы Qx, Qy, Vx, Vy проявляются для свободных порфиринов с симметрией хромофора D_{2h} . А появление двух полос в видимой области в случае комплексов с симметрией D_{4h} связано не с Qx, Qy переходами, а проявлением полосы колебательного спутника (поэтому в случае лигандов их четыре). Поэтому и в обсуждении на стр 91 «две менее интенсивные полосы» в порфиринах фосфора нужно относить не к Qx, Qy, полосам, а к полосе Q(0-0) и ее колебательному спутнику Q(0-1).
- 3) Для комплексов с различными аксиальными лигандами (MeO)P(OH), (EtO)P(OH) приводятся только сдвиги в ^{31}P ЯМР спектре. (табл. 5), а их описание в экспериментальной части отсутствует. Как они получались и характеризовались? Регистрировались ли для них ^1H ЯМР и масс-спектры?
- 4) В случае комплекса P(V)TPP и мезо-толильного производного с п-аминофенолом наряду с основным (ArO) $_2$ координированным продуктом предполагается образование продукта с N-координацией одного из лигандов. Данный вывод в диссертации обосновывается появлением дополнительного сигнала в ^{31}P ЯМР спектре смеси и сигнала пиррольных протонов в ^1H ЯМР спектре (рис.34). Однако, они могут принадлежать и продукту с одним остатком, например, арилокси(гидрокси)комплексу. На приведенном на рис. 34 ^1H ЯМР спектре смеси регистрируется дублет в сильном поле при -2.69 м.д., который может принадлежать резонансу OH продукта с (HO)P(OAr) координацией (ср. рис. 32). Однако, отнесения этого сигнала, а также ряда других слабоинтенсивных дублетов в диссертации не предлагается. Для проверки гипотезы о P-N координации можно проанализировать наличие ССВ P-N.
- 5) Стр. 34 Отсутствие флуоресценции для комплексов некоторых переходных металлов связано с наличием вакантных d – орбиталей, а не «с диамагнитными свойствами металлоцентра». Диамагнитные комплексы Zn(II) d 10 флуоресцируют.
- 6) Стр. 93. Утверждение «..для порфиринов 1- 3 длинноволновая полоса более интенсивна, чем коротковолновая, тогда как для комплексов P(V) наблюдается

обратный эффект.» не соответствует рисунку 37. На самом деле наоборот. Какое этому может быть объяснение?

7) Стр. 95. Ссылка [302] не соответствует контексту, т.к. в ней рассматривается протонирование мезо- и депротонирование пиррольных атомов азота в свободных порфиразинах. Здесь стоило бы привести ссылку на работу Н.Кобаяши по порфиразину фосфора в (Chemical Communications, 50(95), 15101-15104.

8) Стр. 103 Фраза «В результате, электронные возбуждения, соответствующие полосам Sore и Q в спектре поглощения 1-OPhNH₂ соответствуют переносу заряда с лигандов на макроцикл.» не совсем понятна. Ведь речь идет о переносе электрона в возбужденном состоянии с аминогруппы на вакансию, образовавшуюся на МО при возбуждении порфиринового хромофора (PET эффект)

9) Зависимость спектрально-люминесцентных свойств от pH изучалась в водных растворах, что позволяло определить величины pK_a для кислотной диссоциации OH групп и протонированных по атому азота форм. Почему это не сделано при анализе данных титрования?

10) Стр. 81. Что такое «бромированный по плоскости порфирина аналог»? Непонятно где предполагается наличие атома брома.

11) Терминологические и стилистические огрехи: Стр. 15 ...диацилпиррола...,путем его ацилирования..., видимо имеется ввиду формилирование? Стр. 39 . п-фенилсульфатные – правильно сульфонатные; В экспериментальной части (стр 151) продукт 7 ошибочно назван фенильным, а не толильным производным. Стр. 107 «Увеличение числа электронно-акцепторных мезо-заместителей снижает их фотостабильность.» Неясно чью, заместителей ? На рис.19 стоило бы указать выходы порфиринов в реакции смешанной конденсации.

12) Некоторые опечатки: «В следствие...» вместо Вследствие и «расчетные...» вместо расчетные (стр 81), “.. разгАрение флуоресценции...” (стр.102, 103), «..генерации SO (?)” стр. 105; Стр 54. Повтор сноски на Рис.19; Неполная ссылка 111.

Заключение

Диссертационная работа И. А. Ефимовой выполнена на современном научном уровне и имеет несомненную научную и практическую значимость. Она проявила себя и как квалифицированный физико-химик. Автору удалось разработать методы получения комплексов фосфора(V) с макроциклическими порфириновыми лигандами и их аксиальную модификацию. Изучено влияния строения комплексов и реакций кислотно-основного взаимодействия аксиальных лигандов и мезо-заместителей на спектрально-люминесцентные и фотофизические свойства. В ходе биологических исследований на клеточных линиях установлены механизмы цитотоксического действия комплексов на свету и в темновых условиях и систематически изучено дефосфорилирование при взаимодействии с белками.

Полученные результаты и выводы вносят вклад в как в координационную химию комплексов фосфора(V), так и в физическую химию. Содержание диссертации соответствует требованиям паспорта специальности 1.4.1. – Неорганическая химия (2. Дизайн и синтез новых неорганических соединений ... с заданными свойствами. 5. Взаимосвязь между составом, строением и свойствами неорганических соединений. 7. Процессы комплексообразования и реакционная способность координационных соединений, а также паспорту специальности 1.4.4 – Физическая химия (п.1 Экспериментально-теоретическое определение энергетических и структурно-динамических параметров строения молекул и молекулярных соединений, а также их спектральных характеристик и п. 9 «Связь реакционной способности реагентов с их строением и условиями протекания химической реакции»;

Публикации в рецензируемых научных журналах, в полном объеме раскрывают содержание диссертационной работы и соответствуют пп. 11 и 13 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ. Результаты диссертации неоднократно представлялись на научных конференциях. Автореферат в целом отражает содержание диссертации.

Таким образом, диссертационная работа Инессы Андреевны Ефимовой на тему ««ПОРФИРИНАТЫ ФОСФОРА(V) ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ» по научной новизне полученных данных, обоснованности научных выводов, их значению для науки и практики соответствует требованиям пп. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, а ее автор заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.1 - Неорганическая химия и 1.4.4 – Физическая химия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук по специальностям

02.00.03 – органическая химия и 02.00.04 – физическая химия

Профессор и главный научный сотрудник

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ивановский государственный химико-технологический университет»

Стужин Павел Анатольевич

24.09.2026 г.

Контактные данные:

Тел.: +7(4932) 477765, E-mail: stuzhin@isuct.ru

Почтовый адрес: Россия, 153000, г. Иваново, Шереметевский пр-т,7

Адрес места работы:

153000, Россия, г. Иваново, Шереметевский пр-т,7

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановский государственный химико-технологический университет»

Тел.: +7 (4932) 329241 , e-mail.ru: rector@isuct.ru

Подпись П. А. Стужина заверяю:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «ИГХТУ»

А. А. Хомякова