

В диссертационный совет 24.1.192.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении наук Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)

ОТЗЫВ

официального оппонента, к.х.н. Петунина Павла Васильевича на диссертацию Панфилова Михаила Андреевича «Дизайн флуоресцентных индикаторов и фотоактивируемых доноров оксида азота (II)» представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 - органическая химия (химические науки).

Диссертационное исследование Панфилова Михаила Андреевича посвящено такому **актуальному** исследованию как синтез и исследование новых перспективных соединений, способных к генерации NO или его захвату с возможностью последующей количественной оценки концентрации. Важность данной области науки как управляемое высвобождение биологически-значимых молекул и их детектирование в живых клетках не будет вызывать вопросов еще в течение продолжительного времени. Одной из таких молекул, безусловно является NO, которая фактически представляет собой стабильный радикал, играющий важную роль в различных системах человеческого организма в качестве сигнальной молекулы в иммунной, нервной и сосудистой системах. Нарушение регуляции NO может быть связано с различными заболеваниями, включая болезни сердца, гипертонию, инсульт и нейродегенерацию.

Структура представленной диссертации является классической по компоновке и содержанию. Работа изложена на 164 страницах, содержит 83 схемы, 38 рисунков и 5 таблиц. Диссертационная работа состоит из литературного обзора, двух глав обсуждения результатов и экспериментальной части. Список цитируемой литературы (192 источника) оказывает приятное впечатление и демонстрирует умение работать с литературой. Содержание автореферата диссертации адекватно и полно отражает содержание текста диссертации.

К наиболее значимым пунктам **научной новизны** стоит отнести получение индикаторных и генерирующих NO соединений. Так, были синтезированы и апробированы диамино-производные 9-акридона, содержащие NO-чувствительные фрагменты, и было показано, что 7,8-диамино-4-карбокси-10-метил-9(10H)акридон способен успешно взаимодействовать NO *in vitro* с образованием флуоресцирующего продукта. Также были разработаны методы получения N-нитрозо соединений на основе остова BODIPY, среди которых

наиболее эффективным фотоактивируемым донором NO оказался N-(((5,5-дифтор-1,3,7,9-тетраметил-5H-4λ⁴,5λ⁴-дипирроло[1,2-с:2',1'-f][1,3,2]диазаборинин-10-ил)метил)-N-фениламид азота, для которого квантовый выход высвобождения составляет $QY_{NO} = 5.5 \times 10^{-4}$. Было показано, что данное соединение способно эффективно ингибировать активацию тромбоцитов *in vitro* при облучении светом. Кроме того, был реализован синтез фотоактивируемого донора на основе aza-BODIPY, содержащего в своем остове два N-нитрозо фрагмента, способного выделять NO под воздействием ближнего инфракрасного света в зависимости от интенсивности используемого излучения.

Практическая значимость работы не вызывает сомнения так как она является в первую очередь прикладной. При должном развитии данных тематик возможен переход от лабораторных исследований в масштабное производство зондов и источников оксида азота (II). Приятно, что экспериментальные данные подкрепляются физико-химическими исследованиями, что обеспечивает не только практическую, но и теоретическую значимость.

Достоверность полученных результатов подтверждается публикациями в рецензируемых научных журналах, индексируемых Web of Science и Scopus, а также выступлениями на тематических конференциях.

Диссертантом проведен большой объем экспериментов, как химических, посвященных синтезу, так и фото-физических и фото-химических, включая эксперименты на живых клетках, что является безусловным преимуществом диссертации.

К сожалению, как и все диссертации, данная работа не лишена некоторых дискуссионных моментов и вызывает ряд вопросов:

1. Считается хорошим тоном для химиков-органиков приводить не только данные ЯМР, но и также подтверждать гомогенность образца с использованием элементного анализа. А для впервые полученных соединений еще и регистрируется масс-спектр, желательно, высокого разрешения. В отсутствие визуально-представленных спектров ЯМР вопросы о чистоте продуктов неизбежно будут подниматься.

2. В разделе 2.1 приводится синтез ди-амино производного **129**, одной из стадий является превращения соединения **127** в **128**, которое идет с выходом 97%, хотя исходное соединение **127** содержало лишь около 80% самого соединения **127**, а остальное – изомеры. Причем, простым осаждением удалось получить сразу чистый продукт без перекристаллизации (согласно тексту), но

при этом температура плавления (разложения) указана как 40 – 350 градусов цельсия, что наводит на мысль о «грязности» продукта **128**.

3. На странице 86 диссертации в первой строчке есть упоминание соединения **136b**, которое нигде не нарисовано и не объяснено, что это за молекула.

4. Остается открытым вопрос о выборе метода масс-спектрометрии с десорбцией с помощью нагревания (DFS EI), а не ионизация в жидкой фазе в электрическом поле, с учетом того, что описываемые в работе молекулы не отличаются высокой стабильностью.

5. В разделе 2.4 при обсуждении *in vitro* тестов указывается, что время экспозиции клеток с соединением **129** составляла 15 минут. Вызывает сомнение, что этого времени было достаточно для проникновения в клетки, это видно на рисунке 23А, где видны круглые темные клетки Jurkat, не имеющие свечения вовсе. Сомнение также вызывает тот факт, что свечение в некоторых случаях имеет неправильную форму, отличную от круга. В качестве наглядной демонстрации проникновения веществ в клетки следует привести микроскопические изображения без возбуждающего излучения, где была бы четко видна морфология клеток, а затем привести изображение этой же области, но при облучении и затем уже с добавкой источника NO.

6. В разделе 3.6 приводится исследования соединения **157**, которое распадается до соединения **156** с выделением NO под действием лазерного излучения. В тоже время было показано, что соединение **156** может взаимодействовать с оксидом азота, снова формируя соединение **157**. На мой взгляд, было выпущен интересный момент, заключающийся в том, что в таком случае соединение **156** может выступать как инициатор работы тромбоцитов за счет поглощения NO в биологических системах, а в случае наличия облучения и обратной связи возможен, например, контроль вязкости крови.

7. В тексте встречаются тавтологии с однокоренными словами в одном предложении, что стоит отнести к опечаткам и прочим незначительным недостаткам.

8. На мой взгляд, при текущем уровне внедрения реакций кросс-сочетания в химическую технологию, включая технологию БАВ, указывать на трудоемкость этих реакций выглядит анахронизмом (страница 7).

Вышеуказанные недостатки, безусловно, не являются принципиальными и не могут рассматриваться как препятствие для защиты диссертации и присуждения степени кандидата наук. Таким образом, можно заключить, что представленная диссертация Панфилова Михаила Андреевича «Дизайн

флуоресцентных индикаторов и фотоактивируемых доноров оксида азота (II)» соответствует критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней (утв. Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. - Органическая химия.

Официальный оппонент

Кандидат химических наук (02.00.03 Органическая химия),

доцент Исследовательской школы химических и

биомедицинских технологий,

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский

Томский политехнический университет»

634050, Россия, г. Томск,

Проспект Ленина, 30;

Тел. +7 (3822) 60-63-33

E-mail: petuninpavel@tpu.ru

18.09.2023

Петунин Павел Васильевич

Подпись Петунина П.В. заверяю

Ученый секретарь

Томского политехнического университета



Кулинич Екатерина
Александровна