

СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета 24.1.192.01

на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова

Сибирского отделения Российской академии наук (НПОХ СО РАН)

г. Новосибирск

13 октября 2023 г.

ЗАЩИТА ДИССЕРТАЦИИ

младшим научным сотрудником Лаборатории фотоактивируемых процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук Панфиловым Михаилом Андреевичем на тему: «Синтез флуоресцентных индикаторов и фотоактивируемых доноров оксида азота (II)» представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 – органическая химия.

Научный руководитель: к.х.н., Воробьев Алексей Юрьевич

Официальные оппоненты:

Газизов Альмир Сабирович, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории элементоорганического синтеза им. А.Н. Пудовика Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова, обособленного структурного подразделения Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», г. Казань

Петунин Павел Васильевич, кандидат химических наук, доцент исследовательской школы химических и биомедицинских технологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» г. Томск

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН (ИрИХ СО РАН), г. Иркутск.

На заседании присутствовали 15 членов диссертационного совета из 21, в том числе:

1. Волчо Константин Петрович	д.х.н., проф. РАН, Председатель	02.00.03
2. Лузина Ольга Анатольевна	д.х.н., Учёный секретарь	02.00.03
3. Артемьев Александр Викторович	д.х.н., Член совета	02.00.03
4. Бардин Вадим Викторович	д.х.н., Член совета	02.00.08
5. Бородкин Геннадий Иванович	д.х.н., Член совета	02.00.03
6. Зибарев Андрей Викторович	д.х.н., Член совета	02.00.03
7. Карпов Виктор Михайлович	д.х.н., Член совета	02.00.03
8. Колтунов Константин Юрьевич	д.х.н., Член совета	02.00.03
9. Макаров Александр Юрьевич	д.х.н., Член совета	02.00.03
10. Малыхин Евгений Васильевич	д.х.н., Член совета	02.00.03
11. Меженкова Татьяна Владимировна	д.х.н., Член совета	02.00.03
12. Платонов Вячеслав Евдокимович	д.х.н., Член совета	02.00.03
13. Фисюк Александр Семенович	д.х.н., Член совета	02.00.03
14. Шульц Эльвира Эдуардовна	д.х.н., Член совета	02.00.03
15. Яровая Ольга Ивановна	д.х.н., Член совета	02.00.03

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Доброе утро, коллеги! Сегодня пятница 13, и мы начинаем, по-видимому, финальное заседание этого диссертационного совета. Полагаю, что следующее заседание уже будет с новым номером и с новыми специальностями. Сейчас у нас в зале присутствует 15 человек, кворум есть, и мы можем начать работать. И сегодня у нас в повестке дня защиты двух диссертаций на соискание степеней кандидатов химических наук. Начинаем мы с защиты Панфилова Михаила Андреевича. Ольга Анатольевна, вам слово.

Ученый секретарь диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна:

Доброе утро! Я ознакомлю вас со списком документов, имеющихся в диссертационном деле Михаила Андреевича. Заявление в диссертационный совет подано 22 июня 2023 года, копия диплома специалиста выпуска Новосибирского государственного университета 2019 года по специальности «Фундаментальная и прикладная химия», справка о сдаче кандидатских экзаменов, выданная в 2023 году, список научных трудов, отзыв научного руководителя, кандидата химических наук Воробьева Алексея Юрьевича, заключение организации, в которой выполнялась диссертация (Новосибирский институт органической химии), отзыв ведущей организации (Иркутский институт химии имени Фаворского), два отзыва оппонента, два отзыва на автореферат, а также проект заключения диссертационного совета. Все необходимые для защиты документы имеются, поэтому, Михаил Андреевич, приступайте к докладу.

Панфилов Михаил Андреевич:

Доброе утро. Тема моей диссертационной работы была озвучена, поэтому перейдем к введению. Как известно, оксид азота (II) играет важную роль в различных физиологических процессах организма. Для изучения его влияния используются различные инструменты, среди которых особую роль играют те, которые позволяют проводить исследования в режиме реального времени. Для наблюдения за оксидом азота в режиме реального времени удобно использовать флуоресцентный анализ с применением NO-чувствительных флуоресцентных зон, поскольку такой метод анализа отличается высоким пространственным разрешением, высокой скоростью ответа, а также быстрым откликом. При использовании классических доноров оксида азота (II) в исследованиях зачастую отсутствует возможность контролировать скорость

и место его выделения. В связи с этим привлекательным является использование фотоактивированных доноров оксида азота (II), поскольку с их помощью можно потенциально генерировать локальную концентрацию оксида азота, а с помощью химических модификаций можно улучшить средства их доставки.

Первая часть нашей работы была посвящена получению NO-чувствительных флуоресцентных зондов. Наиболее распространенным дизайном в получении таких соединений является включение диаминового фрагмента в остов красителя. До взаимодействия с оксидом азота такой зонд не флуоресцирует, либо флуоресцирует очень слабо. Однако после взаимодействия с оксидом азота в присутствии кислорода наблюдается значительный рост флуоресценции. Примером простого и коммерчески доступного зонда является диаминоантрахинон. Однако одним из его главных недостатков является крайне низкая растворимость в воде и органических растворителях. Мы обратили свое внимание на остов 9-акридона, как на структурно похожий, наличие аминогруппы в котором позволяет нам проводить различные модификации, а дополнительное введение карбоксильной группы позволило бы улучшить растворимость конечных соединений.

Вторая часть нашей работы была посвящена получению фотоактивируемых доноров оксида азота (II). В дизайне таких соединений используются различные подходы, однако в последнее время большую популярность набирает подход с использованием фотоактивируемой нитро-нитритной перегруппировки на ряду с уже ставшим классическим подходом с использованием N-нитрозосоединений. Однако зачастую синтез таких веществ является весьма трудоемкой задачей, состоящей из большого числа стадий и дорогих реагентов. Мы в свою очередь предполагаем разработать методы синтеза-соединений доноров, которые бы получались в несколько стадий и из простых коммерчески доступных реактивов. Для этого мы выбрали остовы BODIPY и aza-BODIPY, поскольку они уже себя хорошо зарекомендовали в биологических исследованиях, а методы их синтеза и модификаций хорошо изучены.

Таким образом, целями данной работы являются синтез новых NO-чувствительных флуоресцентных зондов на основе 9-акридона, а также разработка новых соединений, являющихся фотоактивируемыми донорами оксида азота (II), на основе остовов BODIPY и aza-BODIPY и исследование их свойств.

Были поставлены следующие задачи:

1) Разработка подходов к синтезу производных 1,2-диамино-9(10*H*)-акридона и исследование их способности улавливать NO;

- 2) Синтез соединений, содержащих остов BODIPY и пространственно напряженный нитроароматический фрагмент в *мезо*-положении путем реакции конденсации ароматических альдегидов с пирролами;
- 3) Синтез соединений, содержащих остов BODIPY и N-нитрозо фрагмент, путем взаимодействия *мезо*-хлорметил-1,3,5,7-тетраметил-BODIPY с первичными аминами и дальнейшим нитрозированием;
- 4) Синтез соединений, содержащих остов *aza*-BODIPY и N-нитрозо фрагмент путем превращения халконов в *aza*-BODIPY производные и последующей реакцией нитрозирования;
- 5) Исследование фотофизических свойств и способности полученных соединений выделять NO при фотолизе.

Итак, как уже было сказано ранее, первая часть нашей работы заключалась в получении NO-чувствительных зондов на основе 9(10*H*)-акридона.

Удобным способом получения таких соединений является циклизация замещённых N-фенилантраниловых кислот, которые в свою очередь легко получают по реакции типа Ульмана, например, из *орто*-хлорбензойной кислоты и антраниловой кислоты. Так, полученный по литературной методике акридон 122, вводили в реакцию с йодистым метилом и получали акридон 124. Этот этап был необходим для улучшения растворимости субстрата. Затем мы проводили реакцию нитрования в смеси азотной кислоты и уксусной кислоты и получали в качестве основного продукта 7-нитропроизводное 125. Его мы восстанавливали с помощью системы гидразин гидрат/палладий на угле в этаноле и получали амин 126, для которого затем осуществляли реакцию ацилирования с помощью уксусного ангидрида в уксусной кислоте и проводили реакцию нитрования *in situ* путём добавления азотной кислоты в реакционную смесь. Полученный нитроацетамид 127 подвергали щелочному гидролизу 4N раствором гидроксида натрия и получали продукт 128, который на финальном этапе восстанавливали в аналогичной системе и получали целевой диаминоакридон 129.

Также нами был модифицирован незамещенный акридон. Полученный по литературной методике акридон 123, алкилировали с помощью этилового эфира бромуксусной кислоты и получали акридон 130. Для него осуществляли также реакцию нитрования в смеси азотной и уксусной кислот с добавлением уксусного ангидрида. Полученное нитросоединение 131 восстанавливали в системе муравьиная кислота/триэтиламин в присутствии палладия на угле и восстанавливали его

соответственно до амина 132. В случае использования гидразингидрата в качестве восстановительной системы в качестве основных продуктов мы получали замещенные гидразиды. Аналогичная реакция ацилирования и *in situ* нитрования была нами осуществлена. Полученный нитроацетамид 133 подвергали также щелочному гидролизу и на финальном этапе восстанавливали в аналогичной системе с получением целевого диамина 135.

Для полученных соединений были записаны спектры поглощения и флуоресценции до и после реакции с оксидом азота. Так, для соединения 129 наблюдается значительное изменение спектра поглощения, а интенсивность флуоресценции увеличивается примерно в 5 раз. Напротив, для соединения 135 после реакции с оксидом азота мы не отметили значительных изменений спектра как поглощения, так и флуоресценции. В качестве же продуктов реакции в данном случае была получена сложная смесь веществ.

Сотрудниками Лаборатории оптики и динамики биологических систем НГУ была проверена возможность использования зонда 129 для внутриклеточной визуализации оксида азота на клетках Jurkat. Было показано, что акридон 129 успешно может проникать внутрь клетки и затем реагировать с экзогенным оксидом азота с увеличением флуоресценции.

Таким образом, нами был получен диаминоакридон 129, который способен визуализировать экзогенный оксид азота в клеточных условиях с образованием триазольной формы и увеличением флуоресценции. Однако квантовый выход флуоресценции триазольной формы оказался значительно ниже тех, которые характерны для представленных примеров в литературе, в связи с чем работа в этом направлении была прекращена.

Затем мы перешли к получению фотоактивируемых доноров оксида азота, в частности к получению соединений BODIPY, содержащих пространственно-напряженный нитроароматический фрагмент в *мезо*-положении.

Целевые соединения BODIPY получали путем реакции конденсации 3,5-диметил-4-нитробензальдегида или 4-нитротрифторметилбензальдегида с 2,4-диметилпирролом или незамещенным пирролом в дихлорметане в присутствии каталитического количества трифторуксусной кислоты. Дальнейшее окисление мы проводили путем взаимодействия с дихлордицианохиноном и затем вводили в реакцию эфират трехфтористого бора в присутствии триэтиламина для получения целевых соединений. Таким образом нами была получена серия соединений 136-139. Также

известно, что введение тяжелых атомов галогена в остов хромофора BODIPY влияет на их фотофизические свойства. В связи с чем мы из соединения 136 получили соединение 140 путем взаимодействия с N-йодсукцинимидом.

Для полученных соединений были записаны спектры поглощения и флуоресценции. Для соединений 136-139 характерна полоса поглощения в районе 500 нм. Для соединения 140 полоса поглощения сдвинута примерно на 30 нм, что хорошо согласуется с литературными данными. В случае флуоресценции наибольшую интенсивность показало соединение 136. Это можно объяснить тем, что наличие метильных групп в ядре хромофора препятствует вращению *мезо*-заместителя в возбужденном состоянии и тем самым увеличивает долю излучательного процесса. Для его же аналога, соединения 137, из-за акцепторной природы *мезо*-заместителя увеличивается доля фотоиндуцированного переноса электрона от ядра хромофора к *мезо*-заместителю, что тем самым уменьшает интенсивность флуоресценции.

Применение красителей в биологических исследованиях предполагает их использование в водных растворах. Для соединений BODIPY известно, что они являются гидрофобными и способны образовывать агрегаты в воде. Для нашего соединения 136 были записаны спектры поглощения и флуоресценции в 1% растворе ДМСО и содержащие различные концентрации исследуемого вещества. В спектре флуоресценции видно, что при увеличении концентрации вещества растет интенсивность флуоресценции на 650 нанометрах, что может свидетельствовать об образовании агрегатов. Стоит отметить, что эта полоса флуоресценции полностью отсутствует в органических растворителях, где присутствует только полоса флуоресценции на 500 нанометрах. Подобный эффект агрегационно-индуцированной эмиссии с таким большим сдвигом в красную область характерен для соединений BODIPY, содержащих сложный и объемный заместитель, в то время как для таких простых соединений такой эффект был показан впервые.

Предполагалось, что при облучении наших соединений светом с длиной волны 500 нанометров они будут претерпевать фотоиндуцированную нитро-нитритную перегруппировку с дальнейшим выделением оксида азота. Однако в случае наших соединений при фотолизе мы не наблюдали изменения в их структуре, и, соответственно, не наблюдали выделение оксида азота. Для соединения 140, однако, была отмечена высокая эффективность генерации синглетного кислорода.

Затем мы перешли к получению соединений BODIPY, содержащих N-нитрозо фрагмент. Принцип выделения оксида азота при фотолизе для таких соединений

основывается на фотоиндуцированном переносе электрона, механизм которого представлен на слайде. Расстояние между островом красителя и N-нитрозо фрагментов играет немаловажную роль в эффективности фотовыделения NO. В связи с чем мы решили получить N-нитрозо соединения на основе BODIPY, в которых остоу хромофора был бы разделен с N-нитрозо фрагментом коротким метиленовым мостиком.

Так, полученное по литературной методике соединение 141, метод выделения для которого мы улучшили, и выход вырос с 35% до 60% по сравнению с литературой, мы вводили в реакцию с первичными аминами, анилином или изопропиламином, предварительно нагревая его с йодидом калия. Таким образом были получены два вторичных амина 142 и 143, которые затем нитрозировали нитритом натрия в уксусной кислоте и получали два N-нитрозо соединения 144 и 145. Стоит отметить, что при попытке проведения реакции соединения 141 с анилином и использовании в качестве основания гидрида натрия, нами были получены продукты замещения по боковой метильной группе, а не по *мезо*-положению, как предполагалось изначально.

Мы сравнили эффективность фотовыделения оксида азота для полученных нами соединений и установили, что для соединения 144 характерна более высокая скорость и более высокая эффективность выделения NO, в связи с чем мы перешли к получению его модификации.

Нам было интересно посмотреть, как скажется введение различных заместителей на эффективность выделения оксида азота, в связи с чем было получено соединение 146 из соединения 141 путем реакции с N-Йодсукцинимидом, которое затем вводили в реакцию с анилином, в присутствии поташа и каталитического количества йодида натрия и получали вторичный амин 147, который нитрозировали также нитритом натрия, в смеси уксусной кислоты и тетрагидрофурана. Полученные ранее соединения 142 и 147 также подверглись модификациям. Их вводили в реакцию с метилмагний йодидом и получали диалкил замещенные производные 149 и 151, которые нитрозировали в аналогичных условиях и получали еще два N-нитрозо соединения.

Из всех полученных соединений наиболее эффективным оказалось соединение 144. При облучении светом длиной волны 500 нм оно выделяло оксид азота и превращалось в свой предшественник соединение 142. Квантовый выход выделения оксида азота для него оказался сопоставим с квантовыми выходами, представленными в литературе ранее для схожих соединений. Его аналог соединение 150 подвергалось

аналогичным превращениям, но эффективность выделения им оксида азота была несколько ниже. В случае дийодзамещенного соединения 148 эффективность выделения оксида азота была примерно на порядок ниже, но отмечалась одновременно высокая генерация синглетного кислорода. Напротив, соединение 152, в котором атомы фтора заменены на метильные группы, не выделяло оксида азота вообще и лишь слабо генерировало синглетный кислород.

Нашими коллегами из лаборатории оптики и динамики биологических систем НГУ была проверена возможность использования нашего донора 144 для фотодеактивации тромбоцитов. Обычно такая деактивация происходит благодаря внутриклеточной концентрации оксида азота, находящейся в диапазоне от 3 до 90 нМ. На изображении Е видно, что тромбоциты, инкубированные нашим донором, после облучения заметно снизили свою активность. Об этом можно судить по снижению интенсивности флуоресценции кальций чувствительного зонда, который мы использовали для отслеживания как раз динамики активности тромбоцитов. В случае контрольной группы и группы, инкубированной соединением без нитрозо группы, активность тромбоцитов сохранялась.

Финальная часть нашей работы была посвящена получению соединения aza-BODIPY содержащих N-нитрозо фрагмент. К получению данных соединений мы перешли, поскольку их спектр поглощения начинается от 600 нанометров, что в свою очередь попадает в диапазон так называемого фототерапевтического окна. Исходными соединениями для получения aza-BODIPY являются ароматические 4-нитро-1-бутаноны, которые в свою очередь легко получают из халконов путем реакции Михаэля с нитрометаном.

Полученное по литературной методике соединение 154 вводили в реакцию с избытком ацетата аммония при кипячении в этаноле и получали азадипиррометен 155, который затем вводили в реакцию с эфиром трехфтористого бора в присутствии триэтиламина, выделяли продукт aza-BODIPY и затем вводили его в реакцию с нитритом натрия в смеси уксусной кислоты, ТГФ и дихлорметана и получали диN-нитрозо aza-BODIPY соединение 157.

Также нам было интересно получить водорастворимые соединения aza-BODIPY, поскольку примеров таких соединений в литературе нет. Предполагалось получить диалкиламино замещенные производные, чтобы затем обработкой йодистым метилом превратить их в четвертичные аммонийные соли. Для этого были получены халконы 160a и 160b путем конденсации ацетофенона 153 с альдегидами 158 или 159.

Однако выделение целевого халкона оказалось трудным, в связи с чем мы сосредоточили свое внимание на работе только с одним из них и для соединения 160a провели реакцию Михаэля с нитрометаном и полученное соединение 161 затем вводили в реакцию с избытком ацетата аммония при кипячении, и нами был получен азадипиррометен 162. Его мы вводили в реакцию с эфиром трехфтористого бора, в присутствии диизопропилэтиламина и получили aza-BODIPY 163. Однако при дальнейшей попытке проведения реакции нитрозирования из смеси продуктов нам не удалось выделить целевой продукт N-нитрозирования. Вероятно, это связано с тем, что в данном случае реакция нитрозирования может идти как по атому азота, так и по боковому заместителю, содержащему донорную аминогруппу.

Были исследованы фотофизические и фотохимические свойства соединения 157. Так, при облучении его раствора красным светом с длиной волны 660 нм, его полоса поглощения на 672 нм теряет интенсивность, и увеличивается интенсивность поглощения на 736 нм, что соответствует его предшественнику без нитрозо групп. Стоит отметить, что скорость изменения спектра поглощения значительно увеличивалась, если в исследуемый раствор добавляют ловушку DAR-2 или же реактив Грисса. Вероятно, это связано с необратимым удалением оксида азота из системы, что в свою очередь натолкнуло нас на мысль, что оксид азота может обратимо присоединяться к продукту разложения и тем самым замедлять свое выделение.

Для проверки этого эффекта мы провели серию опытов по облучению и пропусканию газообразного оксида азота через раствор. Так, изначально бриллиантовый зеленый раствор донора 157 мы облучали красным светом, наблюдали обесцвечивание раствора, а спектр поглощения менял свою форму и соответствовал спектру поглощения соединения 156. Дальнейшее пропускание газообразного оксида азота возвращало исходный бриллиантовый зеленый цвет и исходный облик спектра поглощения. Мы провели несколько таких опытов и каждый раз наблюдали аналогичную картину, которая сопровождалась уменьшением интенсивности полосы поглощения.

На основе полученного нашего донора, нашими коллегами из лаборатории оптики и динамики биологических систем НГУ, была разработана и собрана система обратной связи для поддержания заданной концентрации оксида азота в растворе. Примерную схему работы данного устройства можно увидеть на слайде.

Таким образом, были разработаны подходы к синтезу 1,2-диамино-10-(карбоксиметил)-9(10*H*)акридона и 7,8-диамино-4-карбокси-10-метил-9(10*H*)акридона. Было показано, что 7,8-диамино-4-карбокси-10-метил-9(10*H*)акридон способен успешно взаимодействовать с оксидом азота (II) с образованием флуоресцирующего продукта и визуализировать NO *in vitro* в клеточной культуре Jurkat.

Был получен ряд производных BODIPY, содержащих в мезо-положении арильный заместитель со стерически напряженной нитрогруппой и исследовано влияние заместителей на фотофизические и фотохимические свойства. Показано, что изменения заместителей могут приводить к изменению интенсивности флуоресценции вплоть до двух порядков, а йодированное производное характеризуется высокой эффективностью генерации синглетного кислорода. Также показано, что для полученных соединений характерна агрегационно-индуцируемая эмиссия с появлением дополнительной полосы флуоресценции в красной области;

Исходя из легкодоступного мезо-хлорметил-1,3,5,7-тетраметил-BODIPY были получены производные BODIPY, содержащие N-нитрозо группу в мезо-положении. Показано, что наибольшую эффективность фотовысвобождения NO проявляют соединения с ароматическим заместителем и группой BF₂ в остоле BODIPY. Замена BF₂ на BMe₂ приводит к снижению эффективности генерации NO, а введение атомов йода в остов BODIPY приводит к дополнительной генерации синглетного кислорода. С помощью одного из доноров была продемонстрирована возможность фотодезактивации тромбоцитов *in vitro*;

И, наконец, был получено соединение, сочетающее остов аза-BODIPY и два фрагмента N-NO. Показано, что данное вещество обратимо выделяет NO при облучении светом с длиной волны 660 нм. На основе полученного NO-донора было разработано устройство с системой обратной связи, позволяющее поддерживать заданную концентрацию оксида азота (II) в растворе.

На слайде представлен список статей, опубликованных по теме работы и тезисы докладов.

Благодарю за внимание!

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо, Михаил Андреевич! Кто бы хотел задать вопрос? Да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Бардин Вадим Викторович:

У меня такой вопрос. Вообще-то говоря, при использовании аббревиатур химических соединений, которые не относятся к числу общепризнанных, полагается давать где-то первичное объяснение, что это такое; которые не относятся к числу общих признаков, полагается давать где-то, хотя вот теоретично, кто это такой. Вот при использовании, при синтезе халконов была использована компонента, которая латинскими буквами обозначена D-I-P-E-A. В тексте автореферата не указано, что это такое

Панфилов Михаил Андреевич:

Да, спасибо за замечание. Это обозначение для диизопропилэтиламина. Это основание.

Член диссертационного совета – д.х.н., Бардин Вадим Викторович:

Тогда сразу же вопрос. Это довольно экзотическое основание. Почему Вы использовали именно его, а не, скажем, триэтиламин или что-то подобное?

Панфилов Михаил Андреевич:

В нашей работе мы использовали и триэтиламин, и диизопропилэтиламин. Просто в некоторых случаях диизопропилэтиламин, например, для получения аза-BODIPY соединений, был более эффективен. То есть они получались с более высоким выходом.

Член диссертационного совета – д.х.н., Бардин Вадим Викторович:

Я про это не говорю. Я спрашиваю про стандартный синтез халконов, который на странице 20 был обозначен. Когда у вас были особые случаи, я могу понять. Но это стандартный способ – то, что вы привели. TiCl_4 и так далее.

Панфилов Михаил Андреевич:

TiCl_4 , все таки, это не совсем стандартный способ получения халконов. Он скорее способ генерации титановых енолятов, и затем проведения альдольной реакции с альдегидами. Но мы его использовали, поскольку мы пытались добиться того, чтобы у нас реакция конденсации проходила до конца. Но она не проходила до конца ни в случае использования неорганического основания, например, гидроксида калия, ни в случае генерации титанового енолята. Вероятно, это было связано с тем, что реакция получения донорнозамещенных халконов обратима и, видимо, мы выделяли уже реакцию в равновесии.

Член диссертационного совета – д.х.н., Бардин Вадим Викторович:

Хорошо.

Панфилов Михаил Андреевич:

Спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Да?

Член диссертационного совета – д.х.н., Фисюк Александр Семенович:

Скажите, пожалуйста, а для чего нужна дезактивация тромбоцитов?

Панфилов Михаил Андреевич:

Существует перечень заболеваний, которые могут возникать из-за чрезвычайной активности тромбоцитов. Самое распространенное — это тромбоз. То есть, в ответ на какие-то раздражители тромбоциты начинают активироваться, при том, что явной причины для их активации нет. И, соответственно, они могут закупоривать, например, сосуды.

Член диссертационного совета – д.х.н., Фисюк Александр Семенович:

И еще один вопрос. Скажите, у Вас там в акридине, кажется, нитрогруппа была?

Панфилов Михаил Андреевич:

В акридоне, да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Фисюк Александр Семенович:

В акридоне. А зачем нитрогруппу Вы для люминесцентного соединения брали, поскольку нитрогруппа дезактивирует люминесценцию, это известно. Почему нельзя было восстановить и сделать то же самое нитрозо, N-нитрозо например?

Панфилов Михаил Андреевич:

Ну, стоит отметить, что в соединениях акридона мы получали ловушки, содержащие диаминогруппу. Ожидали вот такую реакцию образования триазола, что в свою очередь увеличивает флуоресценцию.

Член диссертационного совета – д.х.н., Фисюк Александр Семенович:

Нет, а там где-то у вас была нитрогруппа еще.

Панфилов Михаил Андреевич:

Да, я Вас понял. Вот здесь. Мы получали вот такие соединения, здесь заместители в орто-положении стоят не просто так, они нужны для того, чтобы вывести NO₂-группу из плоскости кольца, то есть вывести ее из сопряжения. Это тем самым облегчает возможность прохождения вот такого процесса – фотоиндуцируемой изомеризации. Поэтому мы получали нитросоединения.

Член диссертационного совета – д.х.н., Фисюк Александр Семенович:

Можно было восстановить ее и получить N-нитрозо. Или N-ацил нитрозо, они тоже используются как доноры NO.

Панфилов Михаил Андреевич:

Спасибо за предложение, к сожалению, про это мы не думали. Просто у нас вот была такая цель.

Член диссертационного совета – д.х.н., Фисюк Александр Семенович:

И вот еще один вопрос. Люминесценция зависит не только от квантового выхода, но еще и от коэффициента экстинкции. К сожалению, он не везде у Вас присутствует.

Панфилов Михаил Андреевич:

Да, возможно, не везде, но, к сожалению, не могу вам ответить, почему ее где-то нет. Для всех вот этих BODIPY коэффициент экстинкции был измерен и он довольно высокий. Соединения BODIPY в принципе характеризуются высокими коэффициентами экстинкции.

Член диссертационного совета – д.х.н., Фисюк Александр Семенович:

И еще один вопрос. По поводу клеток, какие клетки Вы использовали?

Панфилов Михаил Андреевич:

Для визуализации оксида азота мы использовали клетки Jurkat.

Член диссертационного совета – д.х.н., Фисюк Александр Семенович:

Клетки крови Вы не использовали, нейтрофилы, например?

Панфилов Михаил Андреевич:

Вот здесь клетки крови мы не использовали. Мы использовали тромбоциты, выделенные из крови, для фотодезактивации тромбоцитов.

Член диссертационного совета – д.х.н., Фисюк Александр Семенович:

Хорошо, спасибо.

Панфилов Михаил Андреевич:

Вам спасибо!

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Еще вопросы, пожалуйста?

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович:

У меня к Вам вопрос. Или вопросики, связанные с генерацией синглетного кислорода. В частности, из соединения 31 в автореферате, я не увидел, где здесь это на слайде. У Вас одновременно генерируется окись азота (NO) и синглетный кислород, в

синглетном состоянии. В этой связи у меня вопрос такой: известно, что кислород существует в двух синглетных состояниях — одно синглетное состояние, когда оно возникает посредством воздействия на триплетный кислород энергией эквивалентной примерно 95 кДж/моль при фотолизе, например, а второе синглетное состояние, когда энергия повышается уже до 155 кДж/моль. Какое у Вас синглетное состояние образуется, кислород в каком синглетном состоянии?

Панфилов Михаил Андреевич:

Спасибо за вопрос. Я, наверное, затрудняюсь ответить, но, скорее всего, это что-то близкое к первому числу, которое Вы сказали. Важную роль в генерации синглетного кислорода играет синглет-триплетная конверсия, которая называется интеркомбинационной конверсией. Вот как раз введение атома йода, оно увеличивает долю этого процесса и тем самым мы наблюдаем повышенную эффективность его генерации. Но, к сожалению, по энергиям я Вам не могу сказать, мы это не измеряли.

Член диссертационного совета — д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович:

Теперь скажите, пожалуйста, синглетный кислород является достаточно реакционно способным соединением, вот в частности из соединения 31, которое у Вас в автореферате есть. У Вас одновременно идет генерация окиси азота (NO) и синглетного кислорода. Как Вы думаете, в этот момент синглетный кислород мог бы реагировать с окисью азота превращая ее в двуокись азота и таким образом влиять на концентрацию окиси азота. Это первое. Второе. Синглетный кислород мог бы реагировать с пиррольным фрагментом вашего соединения. Там есть две возможности. Первая возможность реакции этого синглетного кислорода по двойной связи, где находится метильная группа, с образованием в конечном итоге гидроксипроизводного. И второй вариант — это с бутадиеновой системой пиррольной группировки тоже мог бы взаимодействовать синглетный кислород. Вот, уже, может быть, с очень сильной модификацией в Вашем соединении 31. Вот что Вы думаете на эту тему?

Панфилов Михаил Андреевич:

Спасибо за такой длинный вопрос. По поводу реакции синглетного кислорода с оксидом азота. Да, там действительно могут происходить различные взаимодействия, приводящие к различным, так называемым, активным формам кислорода и азота. То есть это, да, вполне возможный процесс. Насчет влияния на концентрацию оксида азота. Я вам не могу сказать, то есть, по результатам нашей работы мы установили, что введение тяжелых атомов галогена в данном случае, оно уменьшает значительную эффективность выделения NO, то есть выделение оксида азота идет не из триплетного

состояния, а из синглетного. Ну, соответственно, дополнительное введение метильной группы к атому бора, оно вообще нивелирует воздействие света на эту группу.

По поводу второго вопроса, реакций синглетного кислорода с двойными связями. Ну, насколько мне известно, после этих опытов мы проводили анализ с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, и мы наблюдали продукты исходные. То есть продуктов присоединения синглетного кислорода мы не наблюдали.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович:

Хорошо, спасибо. И скажите еще. Вот если в живой клетке будет генерироваться синглетный кислород, как Вы думаете, как он будет влиять на здоровье этой клетки?

Панфилов Михаил Андреевич:

Ну, разумеется, влиять он будет отрицательно, поскольку это является цитотоксичным соединением. Одним из применений подобных соединений в фотодинамической терапии является борьба с раковыми клетками, когда входит соединение фотосенсибилизатор и облучают раковую опухоль. И тем самым синглетный кислород разрушает эти клетки. То есть все это больше направлено именно на злокачественные места, но не на здоровые.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович:

Спасибо.

Панфилов Михаил Андреевич:

Вам спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

У меня продолжение вопроса Вячеслава Евдокимовича. А Вы смотрели саму реакционную смесь до разделения? Не образовывалось ли там каких-то продуктов воздействия синглетного кислорода на Ваши вещества?

Панфилов Михаил Андреевич:

Вы имеете в виду облученный раствор?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Да, облученный раствор, не кидая его на хроматографию, посмотреть какими-либо физметодами, что там находится?

Панфилов Михаил Андреевич:

Я понял Ваш вопрос. Нет, честно говоря, такой опыт мы не проводили. Но у нас он в планах есть, мы хотим исследовать этот момент. То есть еще более подробно.

Член диссертационного совета – д.х.н. Артемьев Александр Викторович:

Спасибо за интересный доклад. У меня вопрос тоже по генерации, продолжение этих вопросов по генерации синглетного кислорода. Вот в автореферате есть таблица 3, если можно соответствующий слайд, где приведены квантовые выходы

Панфилов Михаил Андреевич:

Да, я понял про какую вы таблицу, скорее всего. Вот там про квантовые выходы?

Член диссертационного совета – д.х.н. Артемьев Александр Викторович:

Да, квантовые выходы генерации синглетного кислорода. Фотохимического.

Панфилов Михаил Андреевич:

Есть квантовые выходы только для этих соединений.

Член диссертационного совета – д.х.н. Артемьев Александр Викторович:

Ну вот, понятно, для генерации синглетного кислорода Вам надо триплетное состояние, то есть фосфоресценцию. Вот из этой таблицы видно, что соединение 23, что есть ни что иное как йодированный BODIPY, диод BODIPY, квантовый выход синглетного кислорода равен 1. Это понятно, в фосфоресцентное соединение вводим йод и триплетное состояние становится доступным. А вопрос такой, а как для соединений 19,20, которые не содержат атомов йода и, казалось бы, не должны проявлять фосфоресценцию, получается так, что они генерируют синглетный кислород.

Панфилов Михаил Андреевич:

Скорее всего это связано с тем, что для таких соединений синглет-триплетный переход запрещен не полностью, просто его доля при релаксации в разы ниже, чем для соединений, содержащих атомы йода. И поэтому они способны генерировать синглетный кислород, но крайне слабо. В принципе это довольно известный факт для красителей BODIPY.

Член диссертационного совета – д.х.н. Артемьев Александр Викторович:

Окей, хорошо, а тогда времена жизни возбужденного состояния. Тогда если там была какая-то доля фосфоресценции Вы бы увидели кинетики затухания эмиссии, увидели бы несколько времен жизни. Длинные, которые отвечают фосфоресценции, и короткие. Вот как с кинетикой затухания, можете объяснить?

Панфилов Михаил Андреевич:

Кинетику затухания флуоресценции мы измеряли только в опытах по агрегации. Здесь видно только два времени затухания, которые характерны предполагаемым агрегатам с биекспоненциальным приближением и экспоненциальным.

Член диссертационного совета – д.х.н. Артемьев Александр Викторович:

Нет, это тут все отдельный вопрос. Вопрос конкретно, было бы резонно и правильно посмотреть времена жизни дийод и доказать, что тут конкретно фосфоресценция, вот, пожалуйста.

Панфилов Михаил Андреевич:

Мы постараемся это учесть.

Член диссертационного совета – д.х.н. Артемьев Александр Викторович:

Это вопрос просто. Будьте любезны слайд с агрегационо..., а вот он как раз, да. Вот у меня такой вопрос. Вот вы получается, при переходе от разбавленного к более концентрированному раствору у вас низкоэнергетическая полоса увеличивает свою интенсивность.

Панфилов Михаил Андреевич:

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Артемьев Александр Викторович:

Вы относите это в агрегационно-индуцируемой флуоресценции. А если перейти к твердому состоянию? Там должно быть еще более явно видно, как с этим обстоит дело?

Панфилов Михаил Андреевич:

Спасибо за вопрос. Да, действительно для соединений BODIPY, для некоторых, в частности, наблюдается в твердом состоянии еще больший батохромный сдвиг в красную область. Для наших соединений в твердом виде мы не измеряли флуоресценцию. Измеряли только в растворах.

Член диссертационного совета – д.х.н. Артемьев Александр Викторович:

Ну и последний вопрос, если позволите. Спектры эмиссии ваших соединений, в некоторых случаях представляют собой более-менее красивую Гауссову полосу. В некоторых случаях она структурированная. В частности, и здесь так. Вот особенно когда появляется агрегационно-индуцируемая эмиссия в верхнем спектре. Вот это условный дублетик, так его назовем, этот пик вы к чему относите, к каким переходам?

Панфилов Михаил Андреевич:

Вероятно, данный сигнал соответствует агрегатам, в которых порядок агрегации несколько меньше, чем в этих случаях. Конкретно, к сожалению, не могу сказать точно, что здесь. Мы еще не успели до конца исследовать это явление.

Член диссертационного совета – д.х.н. Артемьев Александр Викторович:

Хорошо, понял, спасибо большое.

Панфилов Михаил Андреевич:

Вам спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Скажите, есть подходы, которые позволяют наблюдать агрегацию с помощью ЯМР. Такие методики есть, ими владеют. Вы это пробовали?

Панфилов Михаил Андреевич:

Нет, мы не пробовали с помощью ЯМР. Я, к сожалению, на этот вопрос не могу ответить. Насколько я знаю, с помощью хроматографии есть способ доказательства образования агрегатов.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Есть специальная методика ЯМР, которая позволяет отличать мономеры, димеры. Она достаточно сложная с точки зрения импульсов, но это не Ваши проблемы. У нас это умеют.

Панфилов Михаил Андреевич:

Хорошо, значит мы к Вам обратимся.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Ну это не ко мне, это к Сальникову. Так, а можно слайд 11. Где нарисованы Ваши BODIPY с разной флуоресценцией. Здесь номера соединений это что, они откуда? Из диссертации?

Панфилов Михаил Андреевич:

Да, номера все из диссертации.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Это бы имело смысл, если бы у вас в автореферате была бы такая же нумерация.

Панфилов Михаил Андреевич:

Я с вами согласен, мы упустили этот момент.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Это явная ошибка. Скажите, недавно профессор Ненайденко показал, что влияние заместителей в части BODIPY, в части ароматической, которые затрудняют вращение. Выброс энергии за счет переноса энергии поглощения на вращение очень сильно влияет на квантовые выходы флуоресценции.

Панфилов Михаил Андреевич:

Целенаправленно в данном случае мы ничего менять не пробовали, кроме введения атомов йода, поскольку было интересно посмотреть, как триплетное состояние скажется на эффективности выделения NO. Больше здесь мы никаких модификаций не планировали. Один из вариантов - введение заместителей по атому бора, но насколько это будет эффективно, то есть сможет ли это запустить выделение NO это вопрос.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Немного меняли заместители в гетероциклической части и в ароматической в орто-положении к BODIPY

Панфилов Михаил Андреевич:

Да, я понимаю, но мы ничего не проводили пока что.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Скажите, а зачем нужно поддерживать постоянную концентрацию NO?

Панфилов Михаил Андреевич:

Придется чуть-чуть полистать. На слайде приведены некоторые примеры, которые соответствуют концентрациям оксида азота в наномолярном диапазоне, в частности это участие в иммунном ответе. Можно заживлять раны с помощью оксида азота. Для этого, например, нашими коллегами разрабатываются пленки, содержащие фотоактивируемый донор. Было показано, что он способен выделять оксид азота, при этом само вещество остается внутри пленки.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Я имею в виду последний эксперимент, где Вы с лазером делали установку. Где Ваши коллеги делали.

Панфилов Михаил Андреевич:

Это так называемое ноу-хау. Оно стало возможным, благодаря способности этого соединения в растворе обратно присоединять оксида азота, что в принципе работает как буферная система.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Нет, это я понял, а зачем это нужно? Так сказать, ноу-хау, ноу-вай.

Панфилов Михаил Андреевич:

Пока что ищем практические применения для этой технологии.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

А насколько постоянна эта концентрация?

Панфилов Михаил Андреевич:

Можно здесь увидеть. Просто времени не хватает, чтобы все охватить. Здесь показана сила тока и заданная концентрация оксида азота. Видно, что ток благодаря контроллеру и программному обеспечению мощность лазера корректируется в зависимости от концентрации оксида азота. Как-то так.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

То есть как система обратной связи.

Панфилов Михаил Андреевич:

Да, все верно.

Член диссертационного совета – д.х.н., Фисюк Александр Семенович:

Можно еще один вопрос. Я хочу вернуться к дезактивации тромбоцитов. Скажите пожалуйста, вот Вы выделяли клетки, тромбоциты, потом добавляли ваше вещество, потом светили, да? И, так сказать, дезактивировались. Так может ваше вещество просто является цитотоксичным, и не только тромбоциты, а все подряд будет убивать?

Панфилов Михаил Андреевич:

Спасибо за вопрос. Действительно, такой вопрос уже возникал по поводу того, что остаются ли живы тромбоциты после облучения. Но ответ такой, что остаются. В случаях, когда тромбоциты дезактивируются, их активность мы отслеживали с помощью кальций чувствительного зонда, интенсивность флуоресценции падает сильно и резко во времени, а сама сигнализация продолжается – можно наблюдать

слабый уровень флуоресценции. В случае же когда клетки умирают полностью, происходит постепенное затухание флуоресценции, которое сходит потом на нет.

Член диссертационного совета – д.х.н., Фисюк Александр Семенович:

То есть они живут?

Панфилов Михаил Андреевич:

Да.

Официальный оппонент - к.х.н., доцент Петунин Павел Васильевич:

На самом деле у меня вопрос к этому же слайду. У меня вопрос, рисунки А и С – это один и тот же участок или нет?

Панфилов Михаил Андреевич:

Нет, это разные. Это три разные группы тромбоцитов. Скажем так, три лунки и для каждой отдельно снималась флуоресценция кальциевого зонда.

Официальный оппонент - к.х.н., доцент Петунин Павел Васильевич:

Просто визуально они выглядят разными по яркости. Можно ли проверить на жизнеспособность другими способами, использовать какой-нибудь референсный метод, редуктазный например? Для проверки жизнеспособности в присутствии соединения 142.

Панфилов Михаил Андреевич:

Поскольку конкретно этим я не занимался, я затрудняюсь ответить на этот вопрос. Я думаю, что методы есть, думаю, можно попробовать усилить активность путем добавления активатора: АДФ, адреналина или арахидоновой кислоты, например. Которые, как известно, вызывают активацию тромбоцитов.

Официальный оппонент - к.х.н., доцент Петунин Павел Васильевич:

Хорошо, еще вопрос был. Вы сказали, что соединение... Я сейчас, по слайдам я поздно сориентировался, что нумерацию на телевизоре можно смотреть. Вы сказали, что обесцвечивается раствор, когда NO выделяется. Да, вот здесь. Собственно, я вижу полосы поглощения...

Панфилов Михаил Андреевич:

К сожалению, фотографий исследуемых виалок не сохранилось, чтобы подтвердить слова. То есть, раствор этого донора бриллиантового зеленый, слабо, поскольку мы берем маленькую концентрацию, а после облучения он становится бесцветным, чуть-чуть отдает красным. Очень удобно контролировать момент превращения одного в другое, органолептически.

Официальный оппонент - к.х.н., доцент Петунин Павел Васильевич:

Понятно, теперь давайте отмотаем немножко назад. Вернемся к введению йода в структуру BODIPY. Все-таки, зачем это делать, как уже сегодня справедливо многократно задавали вопрос. Логично, что генерируется попутно синглетный кислород. С одной стороны, у вас NO вроде как терапевтический агент, а синглетный кислород – цитотоксический. Нужно ли их генерировать одновременно? Предсказывали ли Вы, что у вас йод будет, так скажем, негативно влиять на Ваши результаты?

Панфилов Михаил Андреевич:

Как я говорил в докладе, нам было интересно посмотреть, как скажется введение заместителя на эффективность фотовыделения NO. Разумеется, мы предполагали, что синглет-триплетная конверсия, ее доля будет увеличена для йод замещенных производных. Было интересно посмотреть, скажется ли это на эффективности. Возможно, например, выделение NO происходит из триплетного состояния, то мы бы увидели более высокую эффективность генерации, но мы увидели, что увеличение синглет-триплетной конверсии уменьшает эффективность, и тем самым мы сделали соответствующие выводы. А в случае одновременной генерации синглетного кислорода и оксида азота... В принципе, существуют работы, которые используют вот такой эффект одновременного наличия NO и синглетного кислорода не в терапевтических целях, а в цитотоксических, именно эту комбинацию.

Официальный оппонент - к.х.н., доцент Петунин Павел Васильевич:

И последний вопрос. Вернемся к зондам. У Вас было два зонда протестировано структура близка, у вас 129 и 135, но один работает, а второй нет. В чем, на Ваш взгляд, причина такого поведения?

Панфилов Михаил Андреевич:

Ну, одно из предположений, которое у нас есть, это то, что в случае, когда у нас присутствует карбоксильная группа в остоле самого акридона это кольцо становится акцепторным, а данное кольцо становится донорным, что, в принципе, важно для зондов. Там всегда есть часть донорная, которая отвечает за взаимодействие с оксидом азота, и есть часть акцепторная, просто чаще всего их разделяют. То есть фенилендиаминовый фрагмент выводится как-то отдельно, а в нашем случае мы получили его прямо в остове. В случае здесь, все одинаково, поэтому почему не реагирует, не знаем точно.

Официальный оппонент - к.х.н., доцент Петунин Павел Васильевич:

Спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

А можно 21 слайд? Вот здесь NO-releasing фрагмент. Он отделен от фрагмента BODIPY, там есть какое-то сопряжение, возможен ли перенос энергии?

Панфилов Михаил Андреевич:

Да. Я говорил... Такой механизм основан на фотоиндуцируемом переносе электрона – от фрагмента N-NO к остоу красителя, который является акцептором. Затем у нас выбрасывается оксид азота, и вещество регенерирует во вторичный амин. Было показано, что расстояние между остовом красителя и фрагментом несущего нитрозогруппу играет существенную роль. В частности, важно, чтобы реализовывалась конформация, когда у нас вот этот заместитель мог бы при возбуждении находиться напротив, скажем так, в параллельной плоскости к остову хромофора. Это тем самым облегчает перенос электрона. Поэтому мы и делали через короткий мостик.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

А если мостик убрать?

Панфилов Михаил Андреевич:

У нас были опыты, где мы получали, они не вошли в работу... Давайте я пример открою. Вот когда мы получали подобные соединения, там мезо-заместитель был другой, когда у нас аминогруппа была... Анилин замещался здесь и здесь. Мы получали нитрозосоединение, но при облучении там происходили какие-то фотохимические процессы, но никак не связанные с его выделением.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Но это не совсем то, все-таки. Я-то имею в виду именно те соединения, где CH_2 -группы нет?

Панфилов Михаил Андреевич:

Там принцип примерно один и тот же. Что здесь, что здесь.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Ну, не совсем. Не знаю, не очевидно. Там достаточно тонкие вот эти все эффекты. Как Вы заметили, когда кислоту привносите, то работает, то не работает.

Панфилов Михаил Андреевич:

Тут Вы правы. Что еще могу сказать, что в случаях, когда у нас аминокруппа будет напрямую присоединена в мезо-положение, то скорее всего у нас будет сопряжение автоматического заместителя через аминокруппу и вся система будет сопряжена, и тем самым какие-либо различные конформационные превращения будут затруднены при возбуждении. Поэтому скорее всего там эффективность будет крайне низкая, если не нулевая.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Но Вы не пробовали?

Панфилов Михаил Андреевич:

Нет, мы не пробовали.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Так, еще вопросы есть? Ну ладно, достаточно, спасибо. Переходим к следующему пункту, а именно выступление научного руководителя, кандидата химических наук Воробьева Алексея Юрьевича, заведующего лабораторией фотоактивируемых процессов нашего института.

к.х.н., Воробьев Алексей Юрьевич:

Михаил пришел к нам в лабораторию, поступил в аспирантуру в девятнадцатом году. Поэтому вот эту работу в аспирантуре он начал фактически с нуля, то есть в университете он над этим не работал, когда обучался. Тут нужно отметить, что для меня это тоже была новая работа, поэтому как бы помочь сильно советами, предложениями, я мог только из разряда, что Михаил, посмотри вот эту статью, посмотри вот эту статью. Ну и из-за этого приходилось Михаилу набивать очень много шишек. Вот, то есть, когда смотришь на вот эти все схемы, которые у нас нарисованы, создается впечатление, что мы просто брали и делали последовательно, но это немножко не так. То есть за многими стадиями стоят недели труда, и куча-куча попыток получить целевое соединение. Но хочу отметить, что Михаил очень вырос за время обучения в аспирантуре. Очень хорошая у него экспериментальная подготовка оказалась, то есть очень хорошо работает руками, очень хорошая теоретическая подготовка, очень хорошо работает с литературой, то есть это человек из разряда, которому поставил задачу и потом смотришь результаты уже. Также Михаил хорошо владеет русским, так и английским языком и участвовал в подготовке публикаций самым активным образом. В связи с этим, я думаю, Михаил вполне состоялся как

полноценный ученый-исследователь и заслуживает присуждения степени кандидата химических наук.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо. Слово предоставляется Ольге Анатольевне для оглашения документов, поступивших в адрес совета.

Ученый секретарь диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна:

Я ознакомлю вас с заключением организации, в которой выполнялась диссертация (Новосибирский институт органической химии). Заключение гласит о том, что диссертация выполнена в Лаборатории фотоактивируемых процессов. Соискатель, Панфилов Михаил Андреевич, работает в Институте органической химии с 1 июля 2019 года по настоящее время и занимает должность младшего научного сотрудника Лаборатории фотоактивируемых процессов.

В 2019 году Панфилов Михаил Андреевич окончил «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, факультет естественных наук по специальности «Фундаментальная и прикладная химия», кафедра органической химии.

С «01» сентября 2019 года зачислен на обучение в очную аспирантуру НИОХ СО РАН по направлению подготовки «химические науки», специализация «органическая химия», с «09» декабря 2022 переведен на обучение по программам подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре, реализуемым в соответствии с федеральными государственными требованиями (ФГТ) по научной специальности «органическая химия». И на то время, когда выдавалось это заключение, он еще продолжал обучение в очной аспирантуре НИОХ.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2023 году.

Тема диссертационной работы утверждена на заседании Ученого Совета НИОХ в 2019 году.

Научный руководитель: кандидат химических наук Воробьев Алексей Юрьевич, заведующий Лабораторией фотоактивируемых процессов.

Отзыв рецензента кандидата химических наук, доцента Исследовательской школы химических и биомедицинских технологий Томского Политехнического Университета Петунина Павла Васильевича на диссертационную работу – положительный.

Далее в заключении организации приводятся детали обсуждения диссертационной работы. Указывается, что диссертационная работа обладает актуальностью, научной новизной, практической значимостью и теоретической значимостью также.

Достоверность результатов проведенных исследований обеспечена тщательностью проведения экспериментов и применения современных физико-химических методов исследования структур. Строение всех впервые полученных веществ доказано методами ЯМР (^1H , ^{13}C , ^{19}F) и масс спектроскопией высокого разрешения. Достоверность результатов подтверждается независимой экспертизой опубликованных материалов в рецензируемых научных изданиях и апробацией на российских и международных конференциях.

Диссертационная работа соответствует научной специальности «органическая химия».

По теме диссертационной работы опубликовано 3 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, и 2 сообщения в виде тезисов докладов.

Личный вклад соискателя во всех публикациях в химическую часть исследования является основным. Личный вклад соискателя состоит в поиске, анализе и обобщении научной литературы по теме диссертации. Автор принимал непосредственное участие в планировании и проведении всех химических экспериментов, обработке экспериментальных данных, анализе и интерпретации полученных результатов, подготовке научных статей и тезисов к публикации.

Диссертационная работа рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности «органическая химия».

Заключение принято на заседании Объединенного научного семинара Новосибирского института органической химии. Присутствовало на заседании 42 человека, в том числе 19 кандидатов наук и 10 докторов наук. Результаты голосования: все «за», «против» - нет, «воздержалось» - нет. Подписано председателям семинара, замдиректора по научной работе НИОХ СО РАН, кандидатом химических наук Морозовым Денисом Александровичем и секретарем семинара Оськиной Ириной Александровной. И заключение утверждено директором института доктором физико-математических наук профессором Еленой Григорьевной Багрянской.

Далее я вас ознакомлю с отзывом ведущей организации (Иркутский институт химии имени Фаворского). В отзыве ведущей организации отмечается, что оксид азота (II), который в обычных условиях представляет собой токсичный и малоустойчивый

газ, играет важную роль в ряде биохимических процессов, происходящих в организме человека. NO является сигнальной молекулой в иммунной, нервной и сосудистой системах, а нарушение его регуляции может вызывать различные заболевания. В биомедицинских исследованиях востребованы молекулярные инструменты как для управляемой генерации оксида азота (II) *in vitro* и *in vivo*, так и для его детектирования с помощью флуоресцентной микроскопии. Таким образом, диссертационная работа Панфилова Михаила Андреевича, посвященная разработке новых доступных и эффективных функциональных красителей для исследований биологической роли оксида азота на основе акридона, BODIPY и аза-BODIPY, является актуальной и практически значимой.

Далее в отзыве ведущей организации подробно анализируется структура диссертации и перечисляются кратко основные положения этой диссертации. Отмечается ведущей организацией, что в каждой из поставленных задач автором получены новые результаты, имеющие необходимые элементы научной новизны и практической значимости. Несомненным достоинством диссертации Михаила Андреевича является то, что работа не ограничивается разработкой метода синтеза новых органических соединений. Автор активно исследовал фотохимические свойства полученных продуктов, а также взаимодействовал с коллегами биологами и физиками, что, в частности, позволило разработать систему для точного управления концентрацией NO в водной среде *in vitro*. Принципиальных замечаний по материалу диссертации нет. При прочтении диссертации возникли следующие вопросы и замечания:

1) Фотодоноры NO в результате облучения светом образуют новые стабильные продукты, в связи с чем мощным инструментом для изучения этого процесса может служить спектроскопия ЯМР. По какой причине автор не использовал этот метод в своих исследованиях?

2) В ряду красителей **136-140** одно из соединений (**136**) показало аномально высокую (по сравнению с аналогами) эффективность флуоресценции. К сожалению, автор не предоставил удовлетворительного объяснения этого результата.

3) В тексте диссертации встретился ряд досадных неточностей и недоработок: общепринятый термин «квантовый выход» местами заменен на английскую аббревиатуру (QY) и на некорректный вариант «квантовая эффективность»; в экспериментальной части отсутствует описание продукта **142b**; стр. 41 «протонировании OH⁻ группы».

Приведенные вопросы и небольшие замечания ни в коем случае не снижают ценности полученных автором результатов. В целом, диссертационная работа Панфилова Михаила Андреевича выполнена на высоком экспериментальном и теоретическом уровне и представляет собой комплексное и законченное научное исследование, в котором решена научная задача по разработке удобных методов синтеза флуоресцентных индикаторов и фотоактивируемых доноров оксида азота (II).

Текст автореферата, а также 3 статьи, опубликованные автором в рецензируемых журналах, представление полученных результатов на конференциях в полном объеме передают содержание диссертационной работы. Выводы, сделанные автором, четко сформулированы, обоснованы и отражают основное содержание работы.

Содержание автореферата и диссертации соответствует паспорту специальности органическая химия. Рассматриваемая диссертационная работа соответствует также специальности органическая химия и удовлетворяет всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК с изменениями Постановлений действующей редакции. Удовлетворяет требованиям предъявляемым ВАК Минобрнауки России к кандидатским диссертациям, а ее автор, Панфилов Михаил Андреевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности органическая химия.

Отзыв составлен заведующим Лабораторией фотоактивных соединений Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского, доктором химических наук Андреем Геннадьевичем Львовым.

Отзыв обсужден и единогласно утвержден на совместном заседании Лаборатории галогенорганических соединений, Лаборатории фотоактивных соединений и Лаборатории фармацевтической и медицинской химии Иркутского института химии 12 сентября 2023 г. Отзыв утвержден директором Иркутского института химии, доктором химических наук Ивановым Андреем Викторовичем.

Также у нас имеются два отзыва на автореферат. Первый отзыв подписан старшим научным сотрудником лаборатории неопределенных гетероатомных соединений Иркутского института химии имени Фаворского кандидатом химических наук Томилиным. Отзыв положительный.

В качестве замечаний можно указать отсутствие на рисунке 1 информативной части спектра флуоресценции в диапазоне <500 нм для соединения 10 до и после добавления донора NO. Также из автореферата остается неясным концентрация 10.

использованная для инкубирования клеток, дополнительно следовало бы привести данные по цитотоксичности этого соединения. Соискатель утверждает, что усиление флуоресценции внутри клеток после добавления NONOата подтверждает, что зонд **10** взаимодействует с NO и внутри клеток. Однако повышенная флуоресценция внутри клеток до добавления NONOата сама по себе ясно говорит о способности зонда проникать внутрь клеток. Усиление флуоресценции после внесения дополнительного NO-донора говорит о способности самого NO-донора проникать внутрь клетки, при этом неясно, какая его часть поглощается клетками, а какая остается в межклеточном пространстве. Также вопрос вызывает реакция соединения **18** с NO, в результате чего получены сложные смеси, однако спектры поглощения/флуоресценции при этом почему-то не изменились. В разделе 4 автореферата подробно описаны фотофизические свойства флуорофоров, в том числе способность к генерации синглетного кислорода. Однако, из таблицы 2 не ясно, в каком растворителе измерялся квантовый выход, никак не обсуждается приведенный квантовый выход при 375 нм, номера соединений в шапке таблицы не соответствуют заголовку.

Второй отзыв на автореферат, подписанный заведующим Лабораторией функциональных органических соединений Института органической химии им. Зеленского доктором химических наук по специальности «органическая химия» Дильманом Александром Давидовичем. Отзыв положительный, без замечаний.

Пожалуйста, Михаил Андреевич, ответьте на замечания ведущей организации и по автореферату.

Панфилов Михаил Андреевич:

Начнем с первого замечания. Почему мы не использовали ЯМР. При исследовании полученных доноров использовались их микромолярные растворы (10^{-5} – 10^{-6} М), что достаточно для использования метода ВЭЖХ. Для использования ЯМР нам бы пришлось увеличивать концентрацию исследуемых растворов до миллимолярных (10^{-1} – 10^{-3} М). При такой высокой концентрации исследуемых веществ раствор становится полностью непрозрачным, что значительно ухудшает эффективность фотолиза.

По поводу второго вопроса. Было сказано в докладе, что для соединения **136** наличие боковых метильных групп в ядре хромофора препятствует вращению ароматического заместителя в мезо-положении при возбуждении, тем самым увеличивая долю излучательных процессов. Более того, наличие донорных заместителей в ароматическом заместителе уменьшает долю фотоиндуцированного

переноса электрона. Также можно добавить, что были проведены квантово-химические расчеты, которые показали, что для аналога соединения 136 137 НСМО находится на мезо-заместителе.

По поводу третьего вопроса. Согласен с замечаниями касательно текста. Продукт 142b известен, поэтому не был описан в экспериментальной части. Протонирование ОН группы – это естественно опечатка, там должна быть просто гидроксильная группа.

По поводу вопросов Дениса Николаевича. Часть спектра флуоресценции < 500 нм накладывалась на длину волны возбуждения 450 нм, в связи с чем мы не приводили часть спектра меньше 500 нм. Для инкубирования клеток была использована 10^{-4} М концентрация зонда. Поскольку квантовый выход триазольной формы зонда оказался низок, дополнительные исследования для этого соединения, в частности изучение цитотоксичности, не проводились.

По второму вопросу. Стоит отметить, что соединение 10 само по себе обладает флуоресцентными свойствами, в связи с чем после инкубирования можно было наблюдать флуоресценцию в клетках. Сама же цель опыта заключалась в изучении способности зонда взаимодействовать с оксидом азота в клеточных условиях с усилением флуоресценции. Для этого как раз и использовали экзогенный источник оксида азота диэтиламиноноат. Спектры поглощения и флуоресценции для соединения 18 претерпевали совсем незначительные изменения, в отличие от соединения 10.

Квантовый выход флуоресценции измеряли в этаноле, а квантовый выход синглетного кислорода в CCl_4 . По поводу квантовых выходов при облучении светом с длиной волны 375 нм. По поводу квантового выхода при облучении длиной волны 375 нм. Мы также пытались инициировать фотоиндуцированную нитро-нитритную перегруппировку с помощью ультрафиолетового света, однако она не прошла, поэтому на этой длине волны был измерен квантовый выход. Согласен с замечанием касательно номеров соединений: вместо 136-140, в автореферате должно быть 19-23.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Валчо Константин Петрович:

Спасибо. Принимаем? Тогда переходим к следующему пункту, а именно выступление официальных оппонентов. Первым выступает доктор химических наук Газизов Альмир Сабирович – ведущий научный сотрудник Лаборатории

элементоорганического синтеза Института органической и физической химии имени Арбузова, Казань.

Официальный оппонент - д.х.н. Газизов Альмир Сабирович:

Доброе утро, уважаемые коллеги.

Вы знаете, вообще я считаю, что официальный оппонент не должен говорить много, особенно учитывая, что диссовету предстоит еще одно заседание, еще одна защита. Но вот сейчас я немножко отступлю от этого своего правила и сделаю небольшое лирическое отступление, небольшое. Что мы делаем, коллеги, если мы хотим ознакомиться с работой какого-нибудь научного центра? Первое, что мы делаем, мы читаем публикации. Но ведь ни для кого из нас не секрет, что в публикацию входит далеко не все, что сделано руками. Что-то не входит, потому что самому исследователю не очень понятно, что-то не входит ради целостности изложения, и вот с этой точки зрения мне всегда интересно читать диссертации. Потому что диссертация позволяет увидеть работу так, как она есть на самом деле, а не так, как написано в статье. И мне очень приятно, что благодаря диссертационному совету у меня есть возможность познакомиться с работой крупного научного центра, а Новосибирск, безо всякой ложной скромности, это крупный научный центр. Есть возможность познакомиться с работой крупного научного центра, что называется из первых рук. Очень лестно и приятно. Спасибо диссертационному совету за то, что пригласили меня сюда. Я, с вашего позволения, не буду долго останавливаться на актуальности и важности этой работы, но есть один момент, который я хочу отметить. Он неявным образом присутствует в работе, он неявным образом обсуждался и здесь, но тем не менее я считаю, что это надо произнести вслух. Дело в том, что NO-донорные соединения, помимо всего прочего, обладают довольно-таки неплохой биологической активностью. Это, во-первых, цитотоксичность. Вот здесь на одном из слайдов, которые были у диссертанта, это такой роуль в кустах, да, показывалось, что они обладают цитотоксичностью в отношении опухолевых клеточных линий. И мне кажется... Я хочу посоветовать и диссертанту, и руководителю обратить внимание на эти моменты, потому что это придаст дополнительную актуальность и важность работе, и там можно найти на самом деле довольно интересные вещи. Посмотрите, это может быть очень интересно. Что касается самой работы, я отмечу, наверное, два момента. Первое, на что я обратил внимание, когда начал ее читать, это работа, сделанная на самом деле на стыке двух разных химий. С одной стороны, это органическая химия, а с другой стороны, это физическая химия. То есть это такая

комплексная работа. Человек не только синтезировал какие-то соединения, но еще и их изучил. Это на самом деле очень интересно. Таких работ становится все больше. И на самом деле, я думаю, мы потихонечку придем к тому, что большинство работ, которые выпускаются, будут именно такими. Это очень интересно. И еще один момент, который я хочу подчеркнуть, это обратимое присоединение и элиминирование NO фрагмента, который был обнаружен автором. Диссертант не только обнаружил это явление, но еще и при помощи коллег, конечно, создал прибор, который действительно работает, то есть это вещь, которую можно потрогать, которую можно посмотреть, и которая позволяет регулировать, стабилизировать уровень этого оксида азота. Конечно, не очень понятно, для чего это надо, но тем не менее, это можно делать. В принципе показано, что это работает. Это тоже, на мой взгляд, важно. То есть не просто такая фундаментальная работа, но еще и некий приклад. Но, естественно, как и любая работа, эта работа тоже вызвала некоторые вопросы. И я, с вашего позволения, их озвучу. Во-первых, мне стало интересно, чем обусловлен выбор исходных соединений, которые используются для синтеза диаминопроизводных акридонов. Обращает на себя внимание, что оба соединения так или иначе содержат в своей структуре карбоксильную группу. Причем в одном случае эта карбоксильная группа вводилась целенаправленно. То есть это было сделано осознанно. Но возникает вопрос, а для чего, собственно говоря, это было сделано? Эта группа играет какую-то роль? Или это случайно получилось? Я не очень верю. В чем заключается роль вот этой карбоксильной группы? Для чего это делалось, для чего она вводилась? Второй момент, на который я обратил внимание, это страница 68 работы при обсуждении синтеза одного из соединений путем нитрования говорится о том, что... Приводится, во-первых, его выход 23 процента и буквально в следующем предложении говорится о региоселективности нитрования, которая была подтверждена. И вот тут не очень понятно, о какой региоселективности идет речь с таким выходом. На мой взгляд, вот такой низкий выход как раз и говорит о том, что региоселективности-то нет. Для сравнения, аналогичное соединение, автором тоже был пронитровано, но там выход составил 75 процентов. Вот там региоселективность, видимо, есть. Еще одно замечание. На странице 87 говорится о том, что цитирую: данный метод, здесь речь идет об образовании продукта смещения по метильной группе при обработке одного из соединений гидридом натрия и амином. «Данный метод может быть использован для получения...» и тут же в этом же предложении говорится о весьма незначительном выходе продукта в этой реакции. Вот тут, на мой взгляд, предложение само себе

противоречит. Если выход незначительный, то этот метод не может быть использован для получения чего-либо, он не может быть препаративным. Но это скорее придирка, а вот следующий момент вызвал у меня, конечно, некоторые недоумения. На странице 100 говорится о том, что эфират трехфтористого бора использовался для генерирования енолята кетона. Но вот на мой взгляд, для генерирования енолята необходима основная среда, но никак не кислота Льюиса. Здесь, конечно, хотелось бы выслушать пояснение по этому поводу. Естественно, как и во всякой большой работе, имеются неудачные фразы, стилистические погрешности. Я не буду их все перечислять, но некоторые отмечу. Не очень понятно, что имеется в виду под соединениями-донорами. Это страница 99, непонятно, что они донируют. Имеется упоминание о напряженных нитрогруппах, тоже не вполне понятный термин. Частенько при описании сигналов спектров ЯМР употребляются фразы вроде "дублет от водородов, широкий сигнал". Понятно, что мы все так говорим, но тем не менее, это же жаргонизм, и в работе их употреблять не следует. Ну и наконец, у некоторых соединений в экспериментальной части отсутствуют спектры ЯМР ^{13}C , и не очень понятно, с чем это связано. То ли эти соединения были ранее описаны, то ли эти спектры не удалось зарегистрировать по каким-либо причинам соединения нестабильны, плохо растворимы и так далее. В любом случае, это стоило бы отметить явным образом. Но в целом эти замечания не влияют на общую оценку работы. Работа мне понравилась, работа, на мой взгляд, хорошая. И заключение, с вашего позволения, для протокола я зачитаю, так как оно должно быть.

Учитывая актуальность, научную и практическую значимость представленной работы, достоверность полученных результатов и обоснованность выводов, считаю, что диссертационная работа «Синтез флуоресцентных индикаторов и фотоактивируемых доноров оксида азота (II)» полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор – Панфилов Михаил Андреевич заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 Органическая химия. Спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо, Альмир Сабирович. Ответьте, пожалуйста, на вопросы.

Панфилов Михаил Андреевич:

На первый вопрос. Почему мы выбрали именно такие исходные соединения для получения. Как уже говорилось в докладе, удобным способом получения акридонов

является реакция циклизации в кислых условиях производных N-фенилантрапиновой кислоты, которые в свою очередь могут быть получены по реакции типа Ульмана. С помощью карбоксильной группы планировалось улучшить растворимость в воде целевых соединений, а в перспективе использоваться для введения различных функциональных групп.

По поводу второго замечания. Полностью согласен с замечанием, в данном случае была использована неудачная фраза. Имелось в виду, что для полученного продукта было подтверждено нитрование в 8 положение.

Про третий вопрос и страницу 87. Действительно, выход был низкий. Но несмотря на это, других способов получения данного соединения в настоящее время не описано. Возможно, при оптимизации условий проведения реакции такой подход может быть использован.

По поводу эфира трифтористого бора и енолятов. Данный метод получения халконов описан в литературе. Вероятно, при использовании эфира трифтористого бора получается енол или бор-енолят, однако авторы не предоставили механизма данной реакции. В работе авторами были получены 15 различных халконов с использованием эфира трифтористого бора в диоксане. Мы лишь попытались использовать данную методику на наших субстратах.

По поводу неудачных фраз и стилистических погрешностей я согласен. Соединения-доноры – имеется ввиду N-нитрозо соединения. Стерически напряженные нитрогруппы выведены из сопряжения кольца благодаря наличию заместителей в орто-положении, как я показывал на слайде в докладе чуть ранее.

Действительно, у некоторых веществ не было приведено ЯМР ^{13}C . Они не были приведены в случаях, когда у нас была получена смесь акридонов, с преобладанием одного из продуктов. И в одном случае мы действительно забыли указать, что вещество является известным в литературе.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо. Альмир Сабирович, удовлетворены? Вы можете прокомментировать, если хотите.

Официальный оппонент - д.х.н. Газизов Альмир Сабирович:

Не могу удержаться, прокомментирую енолят. Я ни разу не сомневаюсь, что Вы получили эти соединения. И я ни разу не сомневаюсь, что Вы получили их именно при помощи кислотного катализа. То, что альдольно-кетоновая конденсация протекает

как при катализе кислотами, так и при катализе основаниями, очень хорошо известный факт. Но есть существенная разница в механизмах этих двух реакций. Когда Вы используете основания, Вы генерируете енолят. То есть Вы активируете ен-компоненту. Когда Вы используете кислоту, Вы активируете карбонильное соединение за счет координации по атому кислорода этого карбонильного соединения. То есть результат один и тот же, но это два принципиально разных механизма. Ну, все, что я хотел сказать.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо. Имеете право.

Панфилов Михаил Андреевич:

Могу сказать спасибо за ознакомление с диссертацией и за комментарии к ответам на Ваши замечания. Ну, по поводу альдольной конденсации, все правда. Просто я пытался разобраться, почему авторы использовали такие условия, но, к сожалению, в их работах у них просто все получается. Просто искали способ. Спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Переходим к выступлению второго оппонента. Кандидат химических наук Петунин Павел Васильевич, доцент исследовательской школы химических и биомедицинских технологий Томского политехнического университета.

Официальный оппонент - к.х.н., доцент Петунин Павел Васильевич:

Большое спасибо. Так, после первого оппонента выступать чуть сложнее, сказать меньше. Единственное, что я бы хотел добавить, было сказано, что это работа на стыке двух химий. Я бы добавил, что двух химий и немножко биологических исследований. То есть это уже трехкомпонентная работа, и это очень приятно. И всегда, когда я вижу работы подобного типа, которые включают непосредственно практический компонент не простую теоретизацию органических реакций, которые имеют пусть и применение, но какое-то такое немножко эфемерное, здесь же мы видим продукты реакции, которые непосредственно могут быть применены. Да, у нас налицо, что в каких-то случаях соединения получились не совсем удачно, они проигрывают коммерчески доступным препаратам, либо же известным просто в литературе. Но, явно, если научный руководитель говорит правду, а мы считаем, что он говорит правду, то работа стартовала относительно недавно, и за 4 года наметился такой существенный прогресс, то есть доведены соединения до какого-то уже состояния,

когда их можно применить непосредственно в культурах клеток, например. Это уже, на мой взгляд, такой приятный и устойчивый рост на то, чтобы спустя достаточно короткий промежуток времени выйти на прямой паритет с известными соединениями, либо даже выйти вперед относительно передовых образцов. Поэтому, безусловно, эта работа имеет и практическую значимость, много было исследовано новых моментов, таким образом, можно говорить и о научной новизне. Потому что бывают работы, когда сделано много, а выводов никаких глобальных нет, то есть пользы много, а как это работает непонятно.

Безусловно, эта работа, как и все работы, сколько бы мы не уделяли им времени, сколько бы руководитель не старался, сколько бы диссертант не старался, всегда есть определенные недостатки. Мы все по-разному смотрим на эти работы, потому что у нас свои научные школы, свои традиции, свои подходы и, так скажем, свои внутренние стандарты, поэтому все те замечания, которые были мной высказаны, в первую очередь, относятся скорее к привычкам и традициям нашей школы и не могут считаться поводами для не защиты диссертации. А можно не зачитывать замечания?

Ученый секретарь диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна:

Нет, зачитать нужно.

Официальный оппонент - к.х.н., доцент Петунин Павел Васильевич

Нужно зачитать?

Ученый секретарь диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна:

Обязательно.

Официальный оппонент - к.х.н., доцент Петунин Павел Васильевич

Хорошо. Что касается замечаний тогда. По поводу подтверждения структуры соединений, здесь уже звучало замечание об отсутствии ^{13}C спектров, я же хотел сказать еще про отсутствие элементного анализа, по причине того, что гомогенность полученных образцов методами масс-спектрометрии высокого разрешения не подтверждается. В масс-спектрометрии мы видим, что да, у нас молекулярные ионы соответствуют, но все ли молекулы соответствуют этому молекулярному иону, неизвестно. Поэтому элементный анализ, наверное, все-таки следует проводить хотя бы для последних соединений, которые являются уже непосредственно применяемыми. Второе замечание тоже касается выходов, но здесь уже с другого ракурса. Было написано, что соединение 127 содержало 80% основного изомера, то

есть соответственно в смеси с другими изомерами. Далее получается новое соединение и выход указан как 97%. Существует две принципиально возможные вероятности. Либо вы считаете выход по основному компоненту, но это не указываете, что вводит в заблуждение, либо 97% быть математически не может, так как всего 80% исходного соединения в смеси. Поэтому хотелось бы прокомментировать это. Ну и также вызывает некоторые сомнения чистота соединений без кристаллизации. Все-таки нитрование, восстановление процессы достаточно грязные во многих случаях. Поэтому, кстати говоря, по поводу чистоты вызывает сомнения указание температуры плавления как интервал от 40 до 350 градусов. Была указана такая.

Третье замечание. Отсутствует как таковое соединение 1366. Номер в тексте есть, на схемах нигде не нашел. Может быть я, конечно, ошибся.

Четвертый, скорее вопрос. Метод масс-спектрометрии, я так понимаю, был использован DFS с десорбцией нагреванием. Почему не электрораспыление, которое более мягкий и позволило бы получить, может быть, все-таки молекулярный ион, потому что я так понимаю, что молекулярный ион получен термораспылением не был.

Пятое замечание по поводу *in vitro* тестов. Экспозиция клеток соединениями была 15 минут. На мой взгляд, 15 минут, как единственная точка по времени, не является однозначным для того, чтобы сказать, что вещество проникло в клетку. То есть, может быть, какие-то сомнения возникают с утверждениями, что тест был действительно соответствующий тому, как ситуация обстоит в реальности.

Далее, в разделе 3.6 приводится исследование соединения 157. Это вот когда взаимопревращения NO продукта и исходного соединения без NO получается, что у вас имеется механизм контроля концентрации NO, но и тут уже обсуждалось, а где это может быть применено. Вроде интересный факт, а дальнейшего развития это не получило. Опять же, это скорее вопрос, чем замечание.

Ну и мелкие, естественно, тавтологии, орфографические ошибки, зачитывать серьезно и точно не будем.

И еще такой, немножко, на мой взгляд, анахронизм, когда говорят, что реакции кросс-сочетания являются трудными, являются препятствиями, недостатками для синтеза биологически активных соединений. Все-таки сейчас уже даже валидированы методики жидкостной хроматографии в производстве, когда сложную смесь продуктов разделяют с помощью препаративных хроматографов и получают чистые субстанции. Кросс-сочетания уже, по-моему, исследованы вдоль и поперек и можно их смело внедрять в производство, не боясь, что продукт будет слишком дорогостоящим.

По традиции, по правилам, скажу, что вышеуказанные недостатки не являются принципиальными и не могут рассматриваться как препятствия для защиты диссертации на соискание степени кандидата химических наук по специальности «органическая химия». И, таким образом, можно заключить, что представленная диссертация Панфилова Михаила Андреевича соответствует критериям, утвержденным положением о присуждении ученых степеней, которое утверждено положением правительства Российской Федерации, и ее автор заслуживает присуждение ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 «органическая химия».

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо, Павел Васильевич. Михаил Андреевич, ответьте пожалуйста на вопросы.

Панфилов Михаил Андреевич:

Здесь вопрос по поводу элементного анализа. Мы согласны с замечанием. Однако в большинстве журналов разрешается предоставлять либо результаты HRMS, либо результаты элементного анализа. Для конечных соединений были представлены результаты HRMS. В некоторых случаях для промежуточных соединений такой анализ не проводился.

По поводу магического выхода 97%. К сожалению, мы тщательно проверили данные и обнаружили досадную опечатку, в связи с которой был завышен выход. Итоговый выход соединения составил 72%.

По поводу температуры плавления. Оно было измерено неверно. Затем мы перемеряли и вещество разлагалось при нагревании чуть выше 150 градусов.

1366 это опечатка в тексте, это вещество 1426. По поводу выбора методов масс-спектрометрии. Для веществ, для которых мы не смогли зафиксировать молекулярный ион с помощью электронного удара, мы также не смогли зафиксировать молекулярный ион и методом ESI.

По поводу времени экспозиции клеток, в принципе, мы с замечанием согласны. Методику инкубации мы не оптимизировали, а время экспозиции мы выбирали для аналогичных соединений и из других литературных примеров.

Здесь указание на то, что мы могли бы использовать соединение как инициатор работы тромбоцитов за счет поглощения NO, и мы благодарим Павла Васильевича за идею, и мы постараемся учесть это в будущих исследованиях.

С опечатками мы согласны. По поводу реакции кросс-сочетания. Конечно, несомненно, реакции кросс-сочетания широко в настоящее время распространены, но одно из наших главных задач было разработать подходы к получению фотоактивируемых доноров оксида азота 2 со сравнимой эффективностью по отношению к уже описанным в литературе, но при этом значительно уменьшив число стадий синтеза. Более того, зачастую реакции кросс-сочетания требуют тщательного подбора условий проведения реакции, так и подходящий катализатор. Все, спасибо большое.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Удовлетворены? Все, спасибо. Итак, коллеги, переходим к общей дискуссии. Кто бы хотел выступить? Да, конечно.

Член диссертационного совета – д.х.н., Малахов Евгений Васильевич:

Поскольку дискуссия позволяет освещать не только вопросы, связанные непосредственно с диссертацией, но, как отметил один из оппонентов, еще и отражает позицию школы в отношении чего-то. Так вот, то, что я хотел сказать, это, ну, может быть, мое мнение, поскольку я принадлежу к определенной школе, а может быть, нам всем стоит обратить на это внимание. Значит, вот в работах, которые выполнены на стыке наук, всегда нужно быть, на мой взгляд, очень щепетильным. Что твоё, и ты защищаешь. А что, как бы, сделано коллегами и относится, ну, так скажем, к сфере общего пользования. А может быть, выяснится, что один из коллег, работающий на стыке с тобой, тоже захочет эти результаты защищать. Значит, в выводе номер четыре, ну, там в самом начале слова пропущено, синтезировано то-то, то-то, то-то. Но заканчивается вывод словами, на основе полученного донора было разработано устройство, система обратной связи позволяющая и так далее. Вот если бы здесь было просто написано выводы, я бы, как бы, выступил и сказал, ребята, давайте будем более честными. А поскольку тут написано заключение и выводы, то, как бы, в раздел заключение попадает. Ну да, кем-то было разработано и так далее. То есть, вот, как бы, мой призыв. Ребята, давайте будем щепетильными.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо. Еще? Тут в целом все понятно. Исходя из работы, из дискуссии, из ответов на вопросы, можно сказать, что Михаил Андреевич соответствует специальности и соответствует искомой степени кандидата химических наук. И, мне

кажется, что эта работа может стать основанием для дальнейших исследований в целом в ряде направлений. Вам заключительное слово.

Панфилов Михаил Андреевич:

Я бы хотел поблагодарить диссертационный совет за то, что позволили мне защитить свою диссертацию и рассказать про нее. В частности, я бы хотел выразить благодарность своему научному руководителю Алексею Юрьевичу Воробьеву за чуткое руководство и все ценные советы во время выполнения диссертационной работы. Своим коллегам из Лаборатории фотоактивированных процессов НИОХ СО РАН за прекрасную атмосферу во время выполнения работы. Также коллегам из Лаборатории оптики и динамики биологических систем НГУ за помощь в записи спектров поглощения и флуоресценции, а также в проведении фотохимических и фотофизических исследований полученных соединений. Центру коллективного пользования НИОХ СО РАН за запись спектров ЯМР, масс-спектров высокого разрешения, а также за проведение элементного анализа. Моим официальным оппонентам доктору химических наук Газизову Альмиру Сибировичу и кандидату химических наук Петунину Павлу Васильевичу за внимательное ознакомление с моей работой, вопросы и замечания. А также хотел поблагодарить всех тех, кто пришел меня поддержать сегодня. Спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Переходим к голосованию. В состав счетной комиссии предлагаются Меженкова Татьяна Владимировна, Карпов Виктор Михайлович и Фисюк Александр Семенович. Кто за такой состав комиссии, прошу голосовать. Против? Воздержались? Единогласно. Прошу комиссию приступить к работе. Коллеги, комиссия готова огласить результаты.

Член диссертационной комиссии – д.х.н., Карпов Виктор Михайлович:

Комиссия для подсчёта голосов при тайном голосовании по вопросу о присуждении Панфилову Михаилу Андреевичу учёной степени кандидата химических наук.

Состав диссертационного совета утверждён в количестве 21 человека на период действия Номенклатуры специальностей научных работников, утверждённой приказом Минобрнауки России от 24 февраля 2021 г. №118.

Присутствовали на заседании 15 членов совета, в том числе докторов наук по профилю рассматриваемой диссертации – 14, роздано бюллетеней – 15 осталось не

розданных бюллетеней – 6, оказалось в урне – 15. Результаты голосования о присуждении учёной степени кандидата химических наук Панфилову Михаилу Андреевичу: «за» - 15, против - 0, недействительных бюллетеней - 0. Председатель счётной комиссии и члены счётной комиссии, подписи стоят.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Кто за то, чтобы утвердить результаты голосования? Против? Воздержались? Единогласно. Поздравляю. Вопросы к заключению есть?

Учёный секретарь диссертационного совета – д.х.н. Учёный секретарь диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна:

Небольшой комментарий к заключению. Если помните, на прошлом заседании Алексей Васильевич предлагал очень много чего поменять в форме заключения. Но, к сожалению, существует шаблон, рекомендуемый ВАК, поэтому большую часть замечаний, предложенных Алексеем Васильевичем, мы не могли принять и оставили шаблон.

Член диссертационного совета – д.х.н. Малыхин Евгений Васильевич:

Позволю себе встрять. В прошлом заключении, которое предлагал Алексей Васильевич, было сказано: «решению вопроса посвящена диссертация». Решению задач, а на вопросы отвечают. Вот этот момент в самой первой строке учтите пожалуйста.

Учёный секретарь диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна:

Первая строка о присуждении чего-то там? Это шаблон заключения, который предлагает ВАК. Мы его не можем изменить, он нам дан сверху. Поэтому придерживаемся того регламента, который нам предлагают.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Кто за то, чтобы принять заключение? Против? Воздержались? Единогласно, спасибо.

Председатель диссертационного совета
д.х.н., профессор РАН

Волчо К.П.

Учёный секретарь диссертационного совета
д.х.н.

Лузина О.А.

