

Голові разової спеціалізованої вченої ради
Державної наукової установи
«Науково-технологічний комплекс
«Інститут монокристалів»
Національної академії наук України»,
доктору хімічних наук, професору
Вікторії ЛІПСОН

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу **Дмитра Володимировича Кобзева**
на тему: «Довгохвильові галогеновані флуоресцентні поліметинові барвники
для медико-біологічних застосувань»,
що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії
за спеціальністю 102 Хімія, Галузь знань 10 Природничі науки.

1. Актуальність дисертаційної роботи та її зв'язок з державними чи галузевими науковими програмами.

Сучасна медицина нагально потребує нових матеріалів та підходів при лікуванні багатьох захворювань. Зокрема, малоінвазивний та перспективний метод фотодинамічної терапії наразі обмежено використовується в онкології через пошук нових високо-ефективних довгохвильових флуоресцентних барвників-фотосенсибілізаторів. Саме ці барвники допоможуть врятувати життя багатьом пацієнтам. Відомо, що забруднення водних біоресурсів і ґрунтів значно підвищує ризик фізіологічних розладів і ймовірність розвитку раку. Крім того, тривалий стрес виснажує імунну систему, що може призвести до зниження функцій розпізнавання та знешкодження ракових клітин.

Резистентність до антимікробних препаратів залишається ще одним серйозним викликом для глобальної системи охорони здоров'я. Світова Організація охорони здоров'я попереджає про «постантибіотичну еру», спричинену зростанням стійкості до анти-

біотиків в останні роки та появою мультирезистентних бактерій. Фотодинамічна протимікробна терапія допоможе вирішити і цю проблему.

Тому дизайн нових матеріалів з прогнозованими оптичними, фотофізичними, властивостями та біологічною активністю є наразі вкрай важливим. На особливу увагу заслуговують нові матеріали, що виявляють дуальні властивості діагностичних засобів та терапевтичних агентів.

Дисертаційну роботу присвячено розробці і дослідженню нових довгохвильових галогенованих флуоресцентних гептаметинціанінових барвників для вивчення впливу важких атомів на властивості цих барвників з метою вдосконалення матеріалів для тераностики, фотодинамічної терапії (протипухлинної та антибактеріальної) і фотоімунотерапії.

Таким чином, **робота є актуальною** як з теоретичної, так і практичної точки зору.

Роботу було виконано згідно з тематичними планами науково-дослідних робіт відділу органічних люмінофорів і барвників Державної наукової установи «Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» Національної академії наук України» та темами відомчого замовлення НАН України "Функціональні матеріали медико-біологічного призначення на основі галогенвмісних органічних сполук" (2020-2021 рр., номер державної реєстрації 0120U102660), "Флуоресцентні ціанінові та сквараїнові барвники з атомами галогенів в термінальних гетероциклічних фрагментах." (2020 р., номер державної реєстрації 0120U101178) і "Синтез та дослідження галогеновмісних поліметинових барвників та люмінофорів" (2022-2024 рр., номер державної реєстрації 0122U002235).

2. Ступінь обґрунтованості наукових положень в дисертації, їх достовірність і новизна.

Достовірність та обґрунтованість отриманих результатів не викликають сумніву. Висновки та узагальнення в дисертаційній роботі базуються на аналізі великого масиву експериментальних досліджень з використанням сучасних фізико-хімічних та біологічних методів аналізу, таких як ^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопія та мас-спектрометрія для визначення та підтвердження структури синтезованих сполук; тон-

кошарова хроматографія (ТШХ) і рідинна хроматографія (РХ), у тому числі високо-ефективна рідинна (ВЕРХ) і гель-проникна хроматографія для очищення і визначення чистоти проміжних продуктів, барвників та кон'югатів барвників з моноклональними антитілами; електронна абсорбційна та емісійна спектроскопія та квантово-хімічні розрахунки для характеристики речовин та кон'югатів; флуоресцентна мікроскопія, культивування бактерій, *in vivo* візуалізація та проточна цитометрія для біологічних експериментів з мишами.

Наукова новизна: при виконанні роботи Дмитром Володимировичем особисто вперше:

- синтезовано систематичний ряд гептаметинціанінових барвників з різною кількістю (від 1 до 6) атомів йоду або броду в термінальних гетероциклічних фрагментах;
- вивчено взаємозв'язок між структурою та властивостями галогенованих гептаметинціанінових барвників щодо кількості і положення атомів галогену;
- оцінено вплив кількості атомів йоду в гептаметинціанінових барвниках на фотоцитотоксичний ефект до бактерій;
- показано, що йодовані гептаметинціанінові барвники придатні для лікування і фотоінактивації грам-позитивних і грам-негативних бактерій;
- одержано кон'югат «ціаніновий барвник – моноклональне антитіло», який проявляє фотоімунотерапевтичну дію і придатний для тераностики раку.

Практична значимість роботи. Деякі з розроблених дисертантом барвників запропоновано для використання для фотоерадикації бактерій, що дозволяє обійти проблему резистентності бактерій до антибіотиків. Крім того, кон'югат на основі розробленого дисертантом гептаметинціанінового барвника показав високу ефективність для тераностики (*in vivo* діагностики та лікування) раку молочної залози при фотоімунотерапевтичному застосуванні.

3. Загальні дані про структуру дисертації та аналіз її змісту.

Дисертаційна робота складається зі вступу, основного змісту, що включає 5 розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел зі 163 найменувань. Основний зміст роботи викладено на 106 стор., включаючи 8 схем, 48 рисунків та

4 таблиці. Структура роботи відповідає поставленій меті та завданням, а наведені висновки та положення обґрунтовані та достовірні.

В першому розділі (літературний огляд) автором проаналізовано літературний матеріал. Дано загальний огляд явища флуоресценції та ключових класів флуоресцентних барвників, проведено аналіз основних робіт, присвячених існуючим галогеновмісним барвникам та впливу атомів галогенів на їх спектрально-люмінесцентні властивості. Розглянуто існуючі галогеновані поліметинові барвники (фотосенсибілізатори), які запропоновані для використання у медичній практиці, визначено сучасні методи лікування бактеріальних захворювань та терапії ракових захворювань (фотодинамічна терапія та фотоімунотерапія), що мають потреби у нових речовинах для ефективного лікування. Дисертант послідовно пояснює чому саме галогеновані поліметинові барвники мають найкращий потенціал для впровадження цих методів. Огляд добре збалансований і логічно пов'язаний з наступними розділами дисертаційної роботи.

У другому розділі наведено синтетичний шлях одержання гептаметинціанінових барвників, що містять атоми галогену в кінцевих гетероциклічних фрагментах, а саме синтез і підтвердження структури всіх проміжних сполук та цільових барвників.

Третій розділ присвячено ретельному дослідженню впливу введення різної кількості важких атомів галогенів в різні положення термінального індоленінового фрагмента барвників на спектрально-люмінесцентні властивості довгохвильових гептаметинціанінових барвників, а також визначенню зв'язку між структурою та спектральними властивостями, і, особливо, квантовим виходом флуоресценції і квантовий виходом синглетного кисню.

У четвертому розділі зосереджено увагу на застосуванні галогеновмісних гептаметинціанінових барвників для фотодинамічної терапії та тераностики. Так у першій частині розділу описано дослідження фотоцитотоксичності перспективних йодованих гептаметинціанінових барвників до грампозитивних (*S. aureus*) та грамнегативних (*E. coli* та *P. aeruginosa*) бактерій, а друга частина присвячена розробці та дослідженню кон'югату антитіло-фотосенсибілізатор, який було використано для тераностики (фотоімунотерапії) раку молочної залози людини.

У п'ятому розділі (експериментальна частина) викладено методики синтезу та охарактеризовано одержані вихідні матеріали, барвники та кон'югати з антитілами, наведено методики для вимірювання фізико-хімічних і спектральних характеристик одержаних речовин, та методики для визначення антибактеріальної дії *in vitro* та протиракової дії *in vivo*; вказана відповідна матеріальна база, що використовувалась для проведення експериментів.

Висновки узагальнюють результати роботи та обґрунтовують наукову новизну одержаних результатів.

4. Повнота опублікування результатів дисертації, кількість наукових публікацій та конкретний особистий внесок здобувача.

Результати роботи опубліковано у 4 статтях, що реферуються Scopus та відносяться до першого – третього кuartилів (Q1–Q3), згідно з класифікацією SCImago Journal and Country Rank. Для апробації дисертаційної роботи її результати було представлено на 6 вітчизняних і міжнародних конференціях.

Автором дисертаційної роботи особисто проведено експерименти у прикладних та фундаментальних дослідженнях. Автор особисто сформулював висновки та рекомендації, підготував матеріали досліджень до опублікування, брав участь в апробації та обговоренні результатів досліджень.

5. Загальна оцінка дисертації та зауваження.

Дисертаційна робота Кобзева Д.В. є завершеним дослідженням, яке не має істотних недоліків та не викликає принципових зауважень. Різноманітність одержаних флуоресцентних барвників з різною кількістю та положенням атомів галогенів, достовірність підтвердження структури отриманих сполук, з'ясування залежностей структура–властивість, визначення фотоцитотоксичності барвників на бактеріях та оцінка терапевтичної дії кон'югатів з антитілами при лікуванні раку молочної залози на прикладі моделі «голих» мишей висвітлюють кожен аспект мети розробки нових галогенованих флуоресцентних гептаметинціанінових барвників для вивчення впливу важких

атомів на ці барвники з наміром вдосконалення матеріалів для тераностики, фотодинамічної терапії (ФДТ) і фотоімунотерапії (ФІТ).

Текст дисертаційної роботи викладено хорошою англійською мовою, логічно та послідовно. Структура дисертації, мова та стиль викладення відповідають вимогам щодо оформлення дисертацій доктора філософії. Застосована в роботі наукова термінологія є загальноновизнаною, стиль викладення результатів теоретичних і практичних досліджень, нових наукових положень, висновків і рекомендацій є доступним для розуміння та логічним.

Розробка практично важливих для тераностики, фотодинамічної протипухлинної та антибактеріальної терапії галогенованих гептаметинціанінових барвників та постановка досліджень для досягнення поставленої мети – все це логічно представлено у роботі, і тому вона залишила цілком позитивне враження.

В дисертаційній роботі та анотації немає явних недоліків, разом с тим виникають деякі питання та зауваження до змісту та форми наданого матеріалу.

1. З обговорення синтетичної частини роботи не зовсім зрозуміло, чи є представлені методи синтезу вихідних матеріалів та барвників відомими, чи вони повністю були розроблені автором. У науковій новизні автор не зазначає, що були розроблені нові синтетичні методи одержання вихідних матеріалів або барвників, але у тексті дисертації наводяться посилання лише на власні публікації.

2. Не надано пояснення чому синтетичні виходи для деяких барвників значно вищі, ніж інших. Наприклад, барвник **2ICy7** одержано з виходом 38%, а барвник **2ICy7+** лише 15%. З чим це пов'язано?

3. Було б доцільно методом динамічного розсіювання світла дослідити наявність агрегації барвників різного складу у водному середовищі та буферному розчині, який використовується для біологічних тестувань. Відомо, що агрегативні процеси нівелюють фотосенсибілізуючу дію барвника. Зазвичай барвники розчиняють у ДМСО, а потім додають у водні або буферні розчини. При цьому може спостерігатися значна агрегація.

4. На мою думку, можна було б для найбільш перспективного барвника спробувати його капсулювання в полімерний наноносій для цільової доставки барвника в клітини пухлин. При такому підході можна було б уникнути агрегації барвника, підвищити його ефективність, а також нівелювати побічні ефекти на здорові клітин.

Зазначені зауваження не впливають на загальну високу оцінку дисертаційної роботи. В цілому слід зазначити, що дисертантом виконаний великий об'єм міждисциплінарних досліджень, пов'язаних не лише з органічним синтезом, але і з визначенням фізико-хімічних та фотохімічних властивостей одержаних речовин і біомедичною інженерією. Достовірність експериментальних даних не викликає сумніву. Дисертант демонструє знання сучасних методик і теоретичних уявлень, вміння аналізувати та представляти експериментальні данні, обґрунтувати свої висновки.

Відсутність порушень академічної доброчесності.

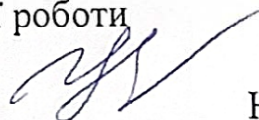
У дисертації та наукових публікаціях Кобзева Дмитра Володимировича відсутні порушення академічної доброчесності.

6. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Загальний висновок.

Дисертаційна робота Кобзева Дмитра Володимировича «Довгохвильові галогеновані флуоресцентні поліметинові барвники для медико-біологічних застосувань» за актуальністю, новизною, рівнем і достовірністю отриманих наукових результатів повністю відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, який затверджено постановою КМУ від 12.01.2022 № 44, а її автор, Кобзев Дмитро Володимирович, заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 Хімія, Галузь знань 10 Природничі науки.

Доктор хімічних наук, старший науковий співробітник,
заступник декана хімічного факультету з наукової роботи
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка



Наталія КУЦЕВОЛ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Секретар НДЧ
Нараульна Н. В.
30.01.2024р.