

Директору федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Институт
органической химии
им. Н. Д. Зелинского РАН
академику РАН
Терентьеву Александру Олеговичу

Я, Павлова Марина Александровна, к.х.н., согласна быть официальным оппонентом диссертационной работы Уварова Дениса Юрьевича на тему *«Новые BODIPY с карбо- и гетероциклическими фрагментами: синтез, фотофизические свойства и оценка возможности применения в биовизуализации»*, представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 – Органическая химия в диссертационный совет 24.1.092.01 при ФГБУН Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук.

К.х.н., с.н.с. лаборатории
Фотоактивных супрамолекулярных
систем ИНЭОС РАН

М.А. Павлова

Подпись М.А. Павловой заверяю:
ученый секретарь ИНЭОС РАН

к.х.н. Е.Н. Гулакова

04.11.2025

Сведения об официальных оппонентах

1. ФИО оппонента: Павлова Марина Александровна

2. ученая степень и наименование отрасли науки, по которым им защищена диссертация: к.х.н., 02.00.03 – органическая химия, 02.00.04 – физическая химия

3. список публикаций оппонента:

1. Panchenko P.A., Arkhipova A.N., Pavlova M.A. (Zakharko M.A.), Jonusauskas G., Fedorova O.A., Fedorov Yu.V. Synthesis and spectral properties of fluorescent dyes based on 4-styryl-1,8-naphthalimide // Изв. АН, Сер. хим.— 2016. — Vol. 65, no. 10. — P. 2444–2450.
2. Panchenko P.A., Arkhipova A.N., Pavlova M.A. (Zakharko M.A.), Fedorova O.A., Fedorov Yu.V., Arkhipov D.E., Jonusauskas G. Controlling photophysics of styrylnaphthalimides through TICT, fluorescence and E,Z-photoisomerization interplay // Phys. Chem. Chem. Phys. — 2017. — Vol. 19, № 10. — P. 1244–1256.
3. Panchenko P.A., Grin M.A., Fedorova O.A., Pavlova M.A. (Zakharko M.A.), Pritmov D.A., Mironov A.F., Arkhipova A.N., Fedorov Y.V., Gediminas J., Yakubovskaya R.I., Morozova N.B., Ignatova A.A., Feofanov A.V. Novel bacteriochlorin–styrylnaphthalimide conjugate for simultaneous photodynamic therapy and fluorescence imaging // Phys. Chem. Chem. Phys. — 2017. — Vol. 19. — P. 30195–30206.
4. Francés-Soriano L., Pavlova M.A. (Zakharko M.A.), González-Béja M., Panchenko P.A., Herranz-Pérez V., Pritmov D.A., Grin M.A., Mironov A.F., García-Verdugo J.M., O.A. Fedorova O.A., Pérez-Prieto J. A nanohybrid for photodynamic therapy and fluorescence imaging tracking without therapy // Chem. Mater. – 2018. – Vol. 30. – P. 3677-3682.
5. Morozov B. S., Namashivaya S. S., Pavlova M.A. (Zakharko M.A.), Oshchepkov A.S., Kataev E.A. Anthracene-based amido-amine cage receptor for anion recognition under neutral aqueous conditions // Chemistry Open. — 2019. — V. 8. — P. 1–6.
6. Panchenko P.A., Ignatov P.A., Pavlova M.A. (Zakharko M.A.), Fedorov Yu V., Fedorova O.A. A fluorescent PET chemosensor for Zn^{2+} cations based on a 4-methoxy-1,8-naphthalimide derivative containing a salicylidenamino receptor group // Mend. Commun. — 2020. — Vol. 30. — P. 332–335.
7. Pavlova M.A. (Zakharko M.A.), Panchenko P. A., Ignatov P. A., Fedorov Y.V., Fedorova, O. A. New conjugate of naphthalimide with bis(o-aminophenoxy)ethane-

- N,N,N',N'-tetraacetate as a fluorescent sensor for calcium cations // *Mend. Commun.* — 2020. — V.30. — P. 332–335.
8. Nikitina P.A., Koldaeva T.Yu., Pavlova M.A. (Zakharko M.A.), Perevalov V.P., Synthesis and study of prototropic tautomerism of 2-(2-furyl)-1-hydroxyimidazoles // *Aust. J. Chem.* — 2020. — Vol. 73, no. 11. — P. 1098–1104.
9. Panchenko P.A., Pavlova M.A. (Zakharko M.A.), Grin M.A., Mironov A.F., Pritmov D.A., Jonusauskas G., Fedorov Yu V., Fedorova O.A. Effect of linker length on the spectroscopic properties of bacteriochlorin – 1,8-naphthalimide conjugates for fluorescence-guided photodynamic therapy // *J. Photochem. Photobiol. A.* — 2020. — Vol. 390. — P. 112338.
10. Morozova N.B., Pavlova M.A., Plyutinskaya A.D., Pankratov A.A., Efendiev K.T., Semkina A.S., Pritmov D.A., Mironov A.F., Panchenko P.A., Fedorova O.A. Photodiagnosis and photodynamic effects of bacteriochlorin-naphthalimide conjugates on tumor cells and mouse model // *J. Photochem. Photobiol. B.* — 2021. — Vol.223. — 112294.
11. Pavlova M.A., Panchenko P.A., Alekhina E.A., Ignatova A.A., Pluytinskaya A.D., Pankratov A.A., Pritmov D.A., Grin M.A., Feofanov A.V., Fedorova O.A. A novel glutathione-cleavable theranostic for photodynamic therapy based on bacteriochlorin e and styrylnaphthalimide derivatives // *Biosensors.* — 2022. — V. 12. — P. 1149.
12. Павлова М. А., Панченко П. А., Власова М. Н., Федорова О. А. Флуоресцентный сенсор на катионы Zn^{2+} на основе производного 4-метокси-1,8-нафталимида, содержащий дипиколиламиновый рецепторный фрагмент // *Изв. АН, Сер. хим.* — 2023. — 72. — № 9. — 2154–2161.
13. Basanova E.I., Kulikova E.A., Bormotov N.I., Serova O.A., Shishkina L.N., Ovchinnikova A.S., Odnoshevskiy D.A., Pyankov O.V., Agafonov A.P., Mozhaitsev E.S, Yarovaya O.I., Kolybalov D.S., Arkhipov S.G., Bogdanov N.E., Pavlova M.A., Salakhutdinov N.F., Perevalov V.P., Nikitina P.A., 2-Aryl-1-hydroxyimidazoles possessing antiviral activity against wide range of orthopoxviruses including Variola virus // *RSC Med. Chem.* — 2024. — V. 15. — P. 3196-3211.
14. Pavlova M.A., Panchenko P.A., Fedorova O.A. A new fluorescent and colorimetric sensor for copper (II) ion detection based on 4-styryl-1,8-naphthalimide derivative // *Mend. Commun.* — 2024. — no. 34. — P. 335–337.
15. Panchenko P.A., Pavlova M.A., Efremenko A.V., Kutsevalova U.A., Ustimova M.A., Feofanov A.V., Fedorov Y.V., Fedorova O.A. Selective and sensitive ratiometric fluorescent probe for copper (II) cations in an aqueous solution based on resonance energy transfer and «1,8 naphthalimide – styrylpyridine» dyad bearing dipicolylamine receptor // *Front. Chem. Eng.* — 2025. — V.19. — 82.

16. Pavlova M.A., Vlaskina A.V., Tyupakova D.E., Kutyakov S.V., Agapova Y.K., Petrenko D.E., Panchenko P.A., Fedorova O.A. In-gel detection of His-tagged proteins with 4-methoxy-1,8-naphthalimide based fluorescent probe // Mend. Commun. — 2025. — V.35(6). — P. 681–683.

17. Pavlova M.A., Efremenko A.V., Panchenko P.A., Golubtsova S.S., Feofanov A.V., Fedorova O.A. A new hydroxynaphthalimide-based merocyanine dye for imaging a mitochondrial viscosity in living cells // Dyes Pigm. — 2026. — V. 245. — P. 113180.

4. полное наименование организации, являющееся основным местом работы на момент написания отзыва: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук

5. занимаемая должность: старший научный сотрудник

К.х.н., с.н.с. лаборатории

Фотоактивных супрамолекулярных

систем ИНЭОС РАН

М.А. Павлова

Подпись М.А. Павловой заверяю:

ученый секретарь ИНЭОС РАН

к.х.н. Е.Н. Гулакова



04.11.2025

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Уварова Дениса Юрьевича

«Новые BODIPY с карбо- и гетероциклическими фрагментами:

синтез, фотофизические свойства и оценка возможности

применения в биовизуализации»,

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. – Органическая химия

Диссертационная работа Уварова Д.Ю. посвящена разработке новых производных хромофора BODIPY, содержащих карбо- и гетероциклические фрагменты, для применения в биовизуализации. Методы флуоресцентной визуализации сегодня представляют собой важнейший инструмент для изучения и анализа внутриклеточных процессов. Высокая чувствительность, возможность визуализировать клеточные органеллы, и даже отдельные молекулы делает флуоресцентную визуализацию крайне востребованной в современной биологии и медицине. К флуоресцентным меткам, используемым на практике, предъявляется ряд строгих требований, касающихся не только оптических характеристик, но и биосовместимости. Выбор подходящего флуорофора для конкретного исследования представляет собой непростую задачу. Именно поэтому разработка и расширение базы доступных флуоресцентных красителей и систем на их основе является **актуальной** задачей современной химии.

Научная новизна исследования Уварова Д.Ю. заключается в том, что автором впервые систематически было изучено влияние введения гетероциклических фрагментов (таких как аза-макроциклы, 1,3,4-тиадиазолы и бензаннелированные 1,3-азолы) в положения 2 и 6 на оптические свойства хромофора BODIPY. Автором был получен ряд новых водорастворимых производных BODIPY, демонстрирующих агрегационно-индуцируемую флуоресценцию, а также конъюгат нейростериода аллопрегналлона с флуоресцентным красителем на основе BODIPY, продемонстрировавший свою эффективность в качестве маркера нейрональных клеток в условиях *in vitro*.

Работа Уварова Д.Ю., очевидно, имеет **практическую значимость** для развития химии фотоактивных соединений, так как закономерности зависимости оптических свойств от структуры красителей, выявленные автором в работе, могут лечь в основу направленного синтеза флуоресцентных маркеров для клеточных органелл и параметров клеточной микросреды.

Литературный обзор диссертации (стр. 9-62) посвящен исследованию способов синтеза, а также общих стратегий разработки флуоресцентных маркеров на основе производных BODIPY для визуализации клеточных органелл, белков, эндогенных биотиолов, а также для мониторинга изменений вязкости клеточной микросреды. Автором подробно рассматриваются особенности функциональных групп и отдельных лигандов,

обеспечивающих накопление маркера в той или иной органелле, или же позволяющих взаимодействовать с целевыми белками и тиолами. Помимо особенностей синтеза, автор анализирует механизмы работы флуоресцентных меток и рассматривает результаты их применения в условиях *in vitro* и *in vivo*. Литературный обзор насчитывает 105 ссылок на оригинальные источники и нельзя не отметить, что подавляющее большинство рассмотренных статей вышло в печать после 2020 года, что еще раз подчеркивает **актуальность** тематики диссертационного исследования. Заключение, сделанное автором по результатам литературного обзора, логично предваряют следующий раздел диссертации Обсуждение результатов.

Обсуждение результатов диссертационного исследования Уварова Д.Ю. (стр.63-117) состоит из трех подразделов, каждый из которых представляет отдельное направление работы и начинается с синтетической части, затем изложены результаты изучения спектральных свойств полученных соединений, а затем для некоторых соединений приведены результаты биологических исследований в условиях *in vitro*.

Первая часть обсуждения результатов посвящена разработке новых цикленовых производных BODIPY, проявляющих свойства AIE-красителей. Впервые с помощью реакции восстановительного аминирования автором был получен широкий круг цикленовых производных BODIPY-хромофоров симметричного и несимметричного, линейного и циклического, ди- и полимерного строения. Автором была проведена большая синтетическая работа по оптимизации условий синтеза и анализу побочных продуктов реакции. Оптические свойства полученных соединений были исследованы в органической и в водной среде, кроме того, подробно исследован эффект агрегационно-индуцированной люминесценции. Для соединений-лидеров были проведены исследования *in vitro*, продемонстрировавшие, что полученные соединения являются биосовместимыми, не взаимодействуют с биогенными катионами металлов внутри клеток и представляют собой перспективную платформу для создания биомаркеров «off-on» типа.

Вторая часть обсуждения результатов посвящена функционализации хромофора BODIPY гетарильными остатками по положениям 2 и 6 для последующего установления зависимостей «структура-свойства», что в дальнейшем должно открыть возможность получения красителей с заданными фотофизическими свойствами. В частности, автором был разработан подход по модификации 2(6)-производных BODIPY 1,3,4-тиадиазольными и бензаннелированными 1,3-диазольными остатками путем конденсации 2(6)-формил-замещенных BODIPY с биснуклеофилами в окислительных условиях. Анализ спектральных свойств полученных соединений позволил выявить среди них редокс-активные и pH-чувствительные красители, а также краситель, демонстрирующий спектральный отклик на pH-среды. Подобные соединения перспективны для

создания на их основе флуоресцентных зондов для мониторинга параметров клеточной микросреды.

Третья часть работы посвящена разработке флуоресцентных конъюгатов нейростероида аллопрегналона и 1,3,5,7-тетраметил-2,4-диэтил-производного BODIPY - красителя, обладающего высокой интенсивностью люминесценции и широко используемого в качестве флуоресцентного маркера. Автором работы впервые был осуществлен и оптимизирован многостадийный синтез конъюгата аллопрегналона и BODIPY, в котором функциональные фрагменты связаны посредством линкера на основе природных аминокислот. Полученный конъюгат был исследован *in vitro* и показал себя как селективный флуоресцентный маркер нейронов в тканях головного мозга.

Заключительным разделом диссертационного исследования является экспериментальная часть (стр.119-160), в которой автором были подробно описаны методики синтеза целевых соединений, а также приведены результаты физико-химических исследований с помощью самых современных методов анализа (ЯМР-спектроскопия на ядрах ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{11}B и ^{31}P ; масс-спектрометрия высокого разрешения; для соединений 12b и 14h также были получены данные рентгеноструктурного анализа). Совокупность представленных в обсуждении результатов и экспериментальной части данных (синтетических и физико-химических) подтверждает строение и чистоту синтезированных автором соединений, а также подробно характеризует их спектральные свойства. В связи с этим можно заключить, что выводы, сделанные по работе, являются достоверными и опираются на достаточных объем полученных данных.

Можно заключить, что работа Уварова Д.Ю. безусловно выполнена на высоком научном уровне, автором проведен большой объем синтетической работы, а также освоены методы спектрального анализа полученных соединений. Каждая из частей работы представляет собой отдельное логически законченное исследование, в начале которого приводится обоснование выбора целевых структур, затем проводится синтез и его оптимизация, после чего подробно исследуются оптические свойства полученных молекул и в заключение рассматривается их применение на реальных клеточных образцах. Работа носит ярко-выраженный междисциплинарный характер, язык и логика изложения демонстрируют владение автором на высоком уровне методами органического синтеза, а также понимание физико-химических процессов, происходящих при фотовозбуждении хромофоров в составе фотоактивных систем.

В ходе изучения диссертационного исследования у оппонента возникли следующие вопросы и замечания:

1) Для получения азамакроциклических производных BODIPY автором впервые было использовано восстановительное аминирование. На стр. 69 автор упоминает об альтернативных методах введения азамакрогетероциклических остатков в ядро BODIPY. Интересно было бы

сравнить ранее использованные методы синтеза с методом, предложенным автором. Имеет ли предложенный метод преимущества с точки зрения мягкости условий синтеза, доступности реагентов, выходов реакций?

2) Одна из задач, поставленных в работе, звучит как «изучение влияния функциональных групп, таких как циклен, 1,3,4-тиадиазол и бензаннелированный 1,3-азол, на фотофизические и сенсорные свойства 2(6)-замещенных BODIPY» (стр. 5). Однако вывод, соответствующий работе по данному направлению, звучит довольно обще (вывод 4, стр. 118: «Показано, что фотофизические свойства 1,3,4-тиадиазольных и 1,3-азольных производных BODIPY зависят от функциональных заместителей в гетероциклических фрагментах. Среди синтезированных соединений обнаружены редокс-активные и pH-зависимые производные»). В тексте обсуждения результатов взаимосвязь структура-свойства была проанализирована, были выявлены конкретные эффекты включения гетероциклических фрагментов в состав BODIPY-хромофора, целесообразно было бы кратко озвучить их в выводе по работе.

3) В экспериментальной части работы большое внимание уделено характеристике полученных продуктов с помощью метода ЯМР, для новых производных BODIPY приведены не только ^1H и ^{13}C спектры, но и ^{11}B , ^{19}F , а также ^{31}P в случае фосфорсодержащих молекул. Однако в описании спектров ^{13}C для большинства соединений, описанных в разделах V.1.2, V.2. (кроме 11a-c, 12a), V.3., число сигналов в спектрах ^{13}C не совпадает с числом атомов углерода в брутто-формуле соединения. Большинство из полученных соединений является несимметричными, то есть не должно содержать большого числа магнитно-эквивалентных атомов углерода.

Данное замечание не ставит под сомнение факт получения описанных соединений в чистом виде, так как строение молекул было подтверждено с помощью совокупности физико-химических методов анализа (в том числе масс-спектрометрией высокого разрешения, ЯМР, а также рентгеноструктурного анализа для ряда соединений), но требует комментария автора.

4) Для соединения 16a приведен масс-спектр с ионизацией методом электронного удара, в описании приборной части отсутствует описание данного прибора, а также не указаны молекулярные массы фрагментарных ионов, образующихся при ионизации методом ЭУ.

5) На рис.12 a,b (стр. 83) на кривых зависимости интенсивности флуоресценции от pH не видно снижения интенсивности люминесценции при pH меньше 2. Случай снижения энергии НСМО цикленового фрагмента настолько, чтобы она стала ниже по энергии, чем НСМО хромофора, достаточно необычен. Для подтверждения его стоило бы провести квантово-химические расчеты энергии молекулярных орбиталей.

Замечания по оформлению:

- часто использованы англоязычные сокращения названий реагентов, имеющие эквивалент в русском языке (DMF, THF и т.д.), на синтетических

схемах в литературном обзоре и обсуждении результатов все подписи над стрелками химических превращений выполнены на английском языке. В случае слов, имеющих прямой эквивалент в русском языке (например h, min, nm, equiv., mol%, rt на схемах 1 и 3-5), это выглядит не совсем уместно в русскоязычной диссертации.

- в диссертации отсутствует раздел «Список основных сокращений и обозначений», в то же время довольно часто встречаются англоязычные названия фотофизических процессов (RIM, AIE, PET), которые не расшифровывались при первом упоминании.

- в таблицах 4-6 в разделе Обсуждение результатов приведены значения параметра FWHM, для которого не приведена расшифровка и перевод на русский язык, при упоминании в тексте значения приводятся то в см^{-1} , то в нм.

- Раздел литературного обзора II.3 носит название «биорегуляторы», но рассматриваются в нем только флуоресцентные маркеры на биотиолы. Раздел II.4 носит название «параметры клеточной микросреды», но из всех параметров микросреды рассмотрены только сенсоры на вязкость. Возможно, целесообразнее было бы дать менее общее название данным разделам.

Все перечисленные замечания не влияют на научное содержание работы и не умаляют значимости полученных автором результатов, не ставят под сомнение новизну и практическую значимость работы.

Диссертационная работа **Уварова Дениса Юрьевича** по поставленным задачам, уровню их решения, актуальности и научной новизне безусловно удовлетворяет требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842), а ее автор - **Уваров Денис Юрьевич** заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности **02.00.03 – Органическая химия.**

Старший научный сотрудник лаборатории
Фотоактивных супрамолекулярных систем
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт элементоорганических соединений
им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН)
Павлова Марина Александровна, к.х.н. (02.00.03. - Органическая химия,
02.00.04. - Физическая химия)
Г. Москва, ул. Вавилова, д. 28, стр.1
8-499-135-92-80
e-mail: pavlova_m@ineos.ac.ru

Подпись Павловой М.А. заверяю
Ученый секретарь ИНЭОС РАН

Дата 04.12.2025

Гулакова Е.Н.