ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.127.02,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК,
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 30 сентября 2025 г. № 10

о присуждении Сизову Льву Ростиславовичу, гражданство – Россия, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Вклад фотохимических реакций I и II типа в фототоксическое действие органических донорно-акцепторных структур» по специальности 1.5.2. – Биофизика принята к защите 19.06.2025 (протокол заседания № 7) диссертационным советом 24.1.127.02, созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН, ул. Институтская, д. 3, г. Пущино, Московская обл., 142290; сайт: https://iteb.ru; утверждён приказом Минобрнауки России № 1086/нк от 22.05.2023).

Соискатель Сизов Лев Ростиславович, 22 ноября 1997 года рождения, окончил в 2019 году бакалавриат (диплом ААМ 2700433, рег. номер 06n-0053-21w) и в 2021 году магистратуру (диплом ААТ 2801853, рег. номер 06v-0124-31w) факультета почвоведения федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ имени М.В. Ломоносова) по направлению 05.04.06 «Экология и природопользование». С 2021 по 2025 год обучался в аспирантуре федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук (ФИЦ ПХФ и МХ РАН) по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки», специальность 1.5.2 «Биофизика» (диплом об окончании аспирантуры

105034 0429488, рег. номер 52), работал там же в должности инженера, затем младшего научного сотрудника.

Диссертация выполнена в лаборатории химической физики ферментов ФИЦ ПХФ и МХ РАН.

Научный руководитель – к.б.н., в.н.с. Рыбкин Александр Юрьевич.

Научный консультант – к.х.н., н.с. Козлов Алексей Вячеславович.

Официальные оппоненты:

1. Страховская Марина Глебовна, доктор биологических наук, заместитель заведующего и доцент кафедры синтетической биологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова;
2. Васильева Людмила Григорьевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник и заведующий лабораторией первичных процессов фотосинтеза Института фундаментальных проблем биологии РАН – обособленного подразделения федерального исследовательского центра «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова Российской академии наук (ФИЦ ХФ РАН), в своем отзыве, составленном руководителем отдела динамики химических и биологических процессов, доктором химических наук, профессором Виктором Андреевичем Надточенко, дала положительное заключение.

Соискатель имеет 11 публикаций по теме диссертации, в том числе 4 статьи опубликованы в рецензируемых научных журналах, индексируемых Web of Science и Scopus и входящих в перечень рецензируемых научных изданий ВАК, и 7 тезисов докладов в материалах российских и международных конференций.

Наиболее значимые публикации по теме диссертации:

1) Non-covalent complexes of polycationic/polyanionic fullerene C60 derivatives with cyanine dyes: Spectral properties and superoxide generation under NIR light

irradiation / L. R. Sizov, A. Y. Rybkin, D. V Revina [et al.] // Dyes and Pigments. – 2024. – Vol. 227. – P. 112202. https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2024.112202

2) Aluminum Phthalocyanine−[60]Fullerene Supramolecular Dyads: Synthesis, Photophysical Properties and ROS Photogeneration / L. R. Sizov, D. V. Revina, A. Y. Rybkin [et al.] // Макрогетероциклы/Macroheterocycles. – 2023. – Vol. 16. – P. 35-42. https://doi.org/10.6060/mhc224864s

3) Фотофизические и фотохимические свойства диады перилен-(цианиновый краситель) в VIS-NIR-области спектра / А. В. Козлов, Л. Р. Сизов, Д. В. Ревина [и др.] // Журнал физической химии. – 2023. – Vol. 97. – № 5. – С. 602-606; переводная версия: Photophysical and photochemical properties of perylene–(cyanine dye) dyad in the VIS–NIR spectrum region / A. V. Kozlov, L. R. Sizov, D. V. Revina [et al.] // Russian Journal of Physical Chemistry A. – 2023. – Vol. 97. – № 5. – P. 808-812. https://doi.org/10.1134/S0036024423050138

4) Photophysical and photochemical properties of the pyropheophorbide-perylene-pyropheophorbide triad / A. V. Kozlov, L. R. Sizov, A. Y. Rybkin [et al.] // Макрогетероциклы/Macroheterocycles. – 2023. – Vol. 16. – №2. – P. 131-136. https://doi.org/10.6060/mhc235101k

На автореферат диссертации поступили отзывы от:

1. д.ф.-м.н., профессора Пащенко Владимира Захаровича, руководителя сектора проблемной лаборатории космической биологии кафедры биофизики биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (задан вопрос: «*С чем может быть связано настолько сильное фототоксическое действие наночастиц с фталоцианином алюминия, и проверялось ли их действие на опухолевые клетки in vivo?*»);

2. д.х.н., профессора Березина Дмитрия Борисовича, ведущего научного сотрудника кафедры органической химии федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Ивановский государственный химико-технологический университет» (заданы вопросы:

«Оказывает ли влияние на эффективность генерации супероксид анион-радикала и реализацию механизма ФДТ I типа степень гидрофильности/гидрофобности ФС, а также полярность растворителя-

среды? Как вклад двух механизмов фототоксичности будет зависеть от характера локализации ФС в клетке или вблизи нее? Может ли изменяться механизм гибели клетки опухоли в зависимости от типа реакции фотоинактивации?»

«Как известно, цианиновые ИК-красители могут выступать в качестве фототермических агентов. Наблюдался ли и учитывался ли эффект фототермии этих соединений в исследованиях автора? Кроме того, зачастую цианиновые красители — продукты замещения атома хлора обладают невысокой фотоустойчивостью, которая важна для реализации процессов фотоинактивации. Были ли применяемые вами соединения, в частности, краситель IR780-C_{60}(1), в достаточной степени фотостабильными?»

«Во всех ли случаях фотофизические и биологические эксперименты проводили в одних и тех же условиях? В воде и в водном растворе полимера агрегационное состояние ФС как правило абсолютно разное, что влияет на фотофизику соединений и результаты ФДТ.»);

3. д.х.н., профессора Грина Михаила Александровича, заведующего кафедрой химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова МИРЭА - Российского технологического университета (сделаны замечания *«Перспективным представляется более детальное описание принципа выбора донорно-акцепторных структур и методологии их исследования, которые позволили бы лучше понять суть работы. Вызывает интерес, насколько стабильны донорно-акцепторные структуры в физиологических условиях и насколько теоретически они смогут сохранить свою изначальную структуру на моделях in vivo при доставке в зону интереса (особенно нековалентные комплексы).»*

«Сформулированные выводы носят общий характер, и целесообразно их конкретизировать и детализировать на основе полученных результатов.»);

4. к.х.н. Дубининой Татьяны Валентиновны, ведущего научного сотрудника кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза химического

факультета МГУ им. М.В. Ломоносова (задан вопрос: *«Не искажает ли результаты по оценке генерации супероксид анион-радикала наличие ПВП?»*)

Отзывы на автореферат положительные, во всех отзывах сделано заключение о том, что диссертационная работа Сизова Льва Ростиславовича отвечает требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сам диссертант заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их квалификацией в областях биофизики, биохимии и химической физики, а также наличием публикаций, близких по теме диссертационной работе Сизова Л.Р.:

Оппонент Страховская Марина Глебовна − доктор биологических наук по специальностям 1.5.2. Биофизика и 1.5.11. Микробиология, направление научной деятельности включает изучение фотодинамического действия органических фотосенсибилизаторов;

Оппонент Васильева Людмила Григорьевна − доктор биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия, направление научной деятельности включает изучение фотофизических и фотохимических процессов в биологических объектах;

Ведущая организация ФИЦ ХФ РАН − широко известна достижениями сотрудников в областях физической химии и биофизики, что позволяет им определить научно-практическую ценность работы диссертанта.

В отзыве д.б.н. Страховской М.Г. сделаны следующие вопросы и замечания:

1. При формулировке основной цели исследования акцент делается на гибридные структуры как фотосенсибилизаторы I типа, хотя и в названии диссертации, и в материалах работы исследуются фотохимические реакции I и II типов, а в положении 3 диссертации отражен определяющий вклад в фототоксическое действие на опухолевые клетки именно реакций II типа.

2. В главе Материалы и методы недостаточно описана подготовка рабочих препаратов, содержащих гибридные структуры.

3. В целях прогнозирования применения исследуемых гибридных структур в фотодинамической терапии было бы полезно оценить их накопление и фототоксическое действие как на опухолевых, так и нормальных клетках.

4. Фотосенсибилизаторы типа I могут не только продуцировать цитотоксические активные формы кислорода, но и напрямую повреждать биомолекулы посредством процесса переноса электронов/водорода. Каков вклад этого процесса в фототоксичность гибридных структур?

В отзыве д.б.н. Васильевой Л.Г. сделаны следующие замечания:

1. По оформлению диссертации. В тексте диссертации имеются опечатки и неточности. В двух подразделах «Материалов и методов» на страницах 48 и 49 дана ссылка на таблицу 3 вместо таблицы 1. В описании практически ко всем рисункам недостает расшифровок многочисленных сокращений, приходится искать их в тексте или в списке сокращений.

2. В разделе «Обзор литературы» рисунок 1 перегружен информацией и трудно воспринимается, а в описании к рисунку не все обозначения расшифрованы (например, уровни S0-2, T1-2). Также не понятно, почему низкая концентрация кислорода способствует образованию именно супероксида при облучении ФС. Кислород, судя по приведенным схемам образования АФК на рисунке 5 стр. 23, нужен для реакций как 1-, так и 2-типа.

3. В разделе «Материалы и методы» при перечислении донорно-акцепторных структур, использованных в работе (с. 46), перечислены их краткие обозначения без пояснений. Например, не понятно, что такое IR (отсутствует в разделе сокращений), и что означают цифры рядом с IR. Только при чтении раздела «Результаты» становится ясно, что так обозначены цианиновые красители. В разделе 2.3.3. Получение водорастворимых наночастиц на основе полимеров, с. 47, не указаны молекулярные массы использованных ПЭГ и поливинилпирролидона. В разделе 2.3.7. Накопление соединений в клетках, не указано, через какое время после добавления соединений регистрировали их накопление. При описании метода МТТ сразу приводится краткое обозначение без его расшифровки (тиазолил

синий тетразолий бромид). Формулы соединений, использованных для создания донорно-акцепторных структур, правильнее было бы привести как приложение к разделу Методы, а не вносить их в раздел Результаты, поскольку диссертант не участвовал в синтезе этих веществ.

4. По разделу «Результаты». При изложении результатов местами не хватает промежуточных заключений, что облегчило бы читателю понимание поэтапной логики исследования.

На стр. 54, рис. 9 и стр. 56 табл. 2 для оценки константы комплексообразования для различных пар краситель−фуллерен автор описывает, как проводили расчет константы Штерна-Фольмера. Эту часть лучше было бы поместить в раздел Методы, также необходимо было привести саму формулу Штерна-Фольмера.

В результатах отсутствует прямое указание на то, по каким экспериментальным данным судили об образовании состояния с разделенным зарядом (СРЗ) в диадах. Если общее тушении флуоресценции в диадах было использовано как показатель образования СРЗ, то необходимо было упомянуть, что в этот процесс вносят вклад как внутреннее тушение, обусловленное безызлучательными переходами внутренней конверсии и колебательной релаксации, так и внешнее статическое тушение, возникающее при взаимодействии с другой молекулой, а также динамическое, температурное, концентрационное тушение. Надежнее было бы отслеживать СЗС по их собственным, предположительно короткоживущим, спектральным характеристикам, например, с помощью фемтосекундной спектроскопии. Такие установки есть в МГУ и в лаборатории первичных процессов фотосинтеза ФИЦ ПНЦБИ РАН, г. Пущино.

Для нековалентного комплекса IR783+ППФ2 (цианиновый краситель-фуллерен) наблюдали повышение генерации супероксид анион-радикала в 52 раза (1я часть раздела 3.1). Почему не была отобрана эта перспективная диада для дальнейшей работы, а вместо этого были ковалентно сшиты значительно менее эффективная пара фуллерен и R780? Это тем более странно, что краситель IR780, как следует из данных диссертации

(автореферат, рис. 16), проявляет темновую цитотоксичность и поэтому не имеет потенциала для ФДТ. Объяснения такому выбору не дается ни в результатах, ни в обсуждении.

5. По разделу «Обсуждение». При теоретической оценке влияния энергии электронного перехода донора-фотосенсибилизатора на эффективность генерации супероксида донорно-акцепторными структурами (автореферат, уравнение 1, рис. 18, с. 21-22) следовало бы учесть или хотя бы упомянуть, что образуемые диадами АФК являются редокс-активными молекулами, которые могут влиять на взаимодействие заряженных компонентов диад, энергию Гиббса и, как следствие, на перенос электрона между донором и акцептором.

В отзыве ведущей организации сделаны следующие замечания*:*

1. Оба механизма фотодинамического действия (и через генерацию синглетного кислорода, и через генерацию супероксид анион-радикала) действуют в мембранах через перекисное окисление липидов. В работе не были исследованы все этапы фотохимических реакций I типа, а была изучена только эффективность генерации супероксид анион-радикала, поэтому нет полного объяснения такой существенной разницы во вкладе фотохимических реакций I типа и II типа в фототоксическое действие изучаемых структур.

2. На рисунке 58 диссертации оси графиков приведены в единицах фототоксичности и эффективности генерации АФК, посчитанных для донорно-акцепторных структур относительно исходных красителей. Следовало бы привести графики не только в относительных, но также и абсолютных величинах, так как это может существенно влиять на характер зависимости.

3. В диссертационной работе не упоминаются известные по литературе антиоксидантные свойства фуллерена, хотя они могут влиять на фототоксическое действие донорно-акцепторных структур на основе производных фуллерена.

4. С учётом того, что в работе разбираются спектры поглощения комплексов (цианиновый краситель)-[производное фуллерена], было бы не

лишним в них выделять полосу поглощения комплекса с переносом заряда в ближнем инфракрасном диапазоне.

5. В модели по переносу электрона в донорно-акцепторных диадах рассматривается кинетика в инвертированной области Маркуса, хотя она очень редко в чистом виде встречается в природе.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

показано, что по фотохимической активности нековалентных комплексов краситель-акцептор можно отбирать пары для дизайна ковалентно-связанных структур с наибольшей эффективностью генерации супероксид анион-радикала;

выявлены факторы, ограничивающие эффективность генерации супероксид анион-радикала в донорно-акцепторных диадах;

определено, что опосредованные генерацией синглетного кислорода фотохимические реакции II типа эффективнее в осуществлении фотодинамического эффекта, чем опосредованные генерацией супероксид анион-радикала фотохимические реакции I типа.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

впервые построена математическая модель, позволяющая оценивать эффективность накопления состояния с разделенным зарядом в донорно-акцепторных диадах с учетом их спектра поглощения;

показано, что фототоксическое действие фотосенсибилизаторов может напрямую коррелировать с их способностью генерировать синглетный кислород, при этом опосредованные генерацией супероксид анион-радикала фотохимические реакции I типа вносят существенно меньший вклад.

Практическая значимость исследования обоснована тем, что:

продемонстрирована возможность проведения скрининга фотохимической активности пар краситель-акцептор с использованием нековалентных комплексов, что позволяет отбирать пары для направленного дизайна донорно-

акцепторных структур с высокой эффективностью генерации супероксид анион-радикала;

показан подход на основе математической модели к оценке эффективности накопления состояния с разделенным зарядом в донорно-акцепторных диадах с учетом их спектра поглощения для направленного дизайна таких структур для разных приложений.

Диссертационная работа является фундаментально направленной, но при этом выполнена в контексте разработок прототипа лекарства с новым и малоизученным механизмом для фотодинамической терапии. Выявленные в работе закономерности могут использоваться не только в рамках получения донорно-акцепторных структур с нужными свойствами, но и при разработке новых фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объёмом экспериментальных данных, проведением экспериментов в нескольких повторах с последующей статистической обработкой данных, согласованностью полученной модели с имеющимися теоретическими знаниями;

воспроизводимость результатов исследования обусловлена применением общепринятых методов исследования и сертифицированного научного оборудования;

использованы современные методы исследования; полученные результаты прошли экспертизу в рецензируемых научных журналах, докладывались на международных и российских конференциях.

Личный вклад соискателя. Все включенные в диссертацию данные получены лично автором или при его непосредственном участии. Автор непосредственно участвовал в обосновании и постановке основной части экспериментов, а также в обобщении результатов исследований. Эксперименты по оценке фототоксического действия соединений на опухолевые клетки HeLa проводились совместно с сотрудником лаборатории молекулярной биологии

ФИЦ ПХФ и МХ РАН Филатовой Н.В. Планирование исследований, обсуждение и обобщение полученных результатов осуществлялось совместно с научным руководителем к.б.н. Рыбкиным А.Ю.

В ходе защиты диссертации критических замечаний соискателю не было сделано. Были сделаны некоторые замечания непринципиального характера, отмечались некоторые недочеты, технические или грамматические ошибки. Соискатель Сизов Л.Р. ответил на все задаваемые ему в ходе заседания вопросы.

На заседании 30 сентября 2025 г. диссертационный совет принял решение за работы в актуальной области разработки фотосенсибилизаторов и изучению их фотодинамического действия присудить Сизову Льву Ростиславовичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 7 докторов биологических наук по специальности «биофизика», участвовавших в заседании, из 18 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» – 13, «против» – 1, недействительных бюллетеней – 2.

Председатель
диссертационного совета
чл.-корр. РАН Г.Р. Иваницкий

Ученый секретарь
диссертационного совета
к.б.н. Л.Г. Бобылёва

« 1 » октября 2025 г.