

# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0824U001032

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 22-02-2024

Статус: Запланована

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



## II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Синюгіна Агнеса Тарасівна

2. Ahnesa T. Syniuhina

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-0604-6539

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія та біохімія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: 091 Біологія

Дата захисту:

Спеціальність за освітою: хімія

Місце роботи здобувача: Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Код за ЄДРПОУ: 02070944

Місцезнаходження: вул. Володимирська, буд. 60, Київ, 01033, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

### **III. Відомості про організацію, де відбувся захист**

**Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради):** 3461

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417101

**Місцезнаходження:** вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

### **IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію**

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417101

**Місцезнаходження:** вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

### **V. Відомості про дисертацію**

**Мова дисертації:** Українська

**Коди тематичних рубрик:** 62.37.43.21

**Тема дисертації:**

1. Внутрішньоіонні барвники як зонди для флуоресцентної візуалізації клітин і потенційні реагенти для фотодинамічної терапії
2. Intraionic dyes as probes for fluorescence visualization of cells and potential reagents for photodynamic therapy

**Реферат:**

1. Синюгіна А. Т. «Внутрішньоіонні барвники як зонди для флуоресцентної візуалізації клітин і потенційні реагенти для фотодинамічної терапії» – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія (09 – Біологія) – Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ, 2023. Дисертація присвячена пошуку нових флуоресцентних внутрішньоіонних поліметинів на основі мероціанінових та сквараїнових барвників як реагентів для візуалізації клітин і фотодинамічної терапії. Флуоресцентна візуалізація з використанням поліметинових барвників є важливим інструментом для біомедичних досліджень. Найбільш перспективними є поліметинові барвники, які поглинають та випромінюють світло у ближньому червоному діапазоні. Це дозволяє зменшити фоновий сигнал та покращити якість зображення. Довгохвильові барвники

поліметинового ряду використовуються як реагенти для флуоресцентної візуалізації клітин та як фотосенсибілізатори для проведення фотодинамічної терапії. Для біологічних застосувань найчастіше використовуються катіонні ціанінові барвники, оскільки вони мають високі значення квантових виходів флуоресценції та молярних коефіцієнтів екстинкції. Однак відомо, що катіонні барвники здатні до селективного накопичення в мітохондріях клітин, що ускладнює їхнє неспецифічне розподілення в об'ємі клітини, конструювання кон'югатів для адресної доставки потрібних нам лігандів. Тому виникає потреба вдосконалення методів флуоресцентного мічення, а саме пошук мінімізації впливу барвника на фармакінетику його кон'югату. Одним із рішень є розробка довгохвильових флуоресцентних барвників, що не містять заряду чи заряд є скомпенсованим всередині молекули. Використання внутрішньоіонних барвників допоможе розширити практичні можливості для флуоресцентної візуалізації клітин та дизайну адресних флуоресцентних кон'югатів. До внутрішньоіонних барвників відносять мероціанінові та сквараїнові барвники. Досліджені спектральні властивості ряду нових мероціанінових барвників із мезо-замісниками в поліметиновому ланцюзі, які поглинають світло в області понад 600 нм. Їх спектральні характеристики вивчені у метанолі, водному буфері та в присутності глобулярних білків. На основі експериментальних даних розраховані константи зв'язування мероціанінових барвників із людським сироватковим альбуміном та показано, що жорстка фіксація поліметинового ланцюга шляхом введення мезо-замісників в поліметиновий ланцюг сприяє зростанню констант зв'язування із білком. Утворення нековалентних комплексів із альбумінами впливає на спектрально-флуоресцентні властивості барвників, зокрема, спостерігається зростання інтенсивності флуоресценції, квантових виходів флуоресценції та зміщення максимумів поглинання в довгохвильову частину спектрального діапазону. Були передбачені можливі сайти зв'язування мероціанінів на поверхні білкової молекули людського сироваткового альбуміну за допомогою молекулярного докінгу. За результатами проточної цитометрії встановлено, що синтезовані мероціаніни проникають у клітини A2780. За результатами флуоресцентної мікроскопії живих клітин A2780 та проведеної колокалізації із мітохондріально-специфічним барвником родамін-123 та барвником селективним до ядерного хроматину Hoechst3342, показано, що мероціаніни локалізуються в мітохондріях без вираженої специфічності і не проникають до ядра клітин. Окрім того, за результатами МТТ-аналізу встановлено, що барвники з фенільними та амінодифенільними замісниками в мезо-положенні поліметинового ланцюга не проявляють цитотоксичної дії на клітини MCF-7 в представленому діапазоні концентрацій та часом інкубації 24 години. Типовими представниками бетаїнів є барвники на основі квадратної кислоти – сквараїнові (скварилієві) барвники. Науковий інтерес до фотохімії сквараїнів пов'язаний з їх фотостабільністю, високою інтенсивністю флуоресценції та здатністю генерувати активні форми Оксигену при опроміненні світлом відповідної довжини хвилі. На клітинній лінії MCF-7 була досліджена темнова та світлова токсичність барвників із метильними, сульфо- та карбоксильними N,N'-алкільними замісниками. За результатами МТТ-аналізу виявлено, що усі три сквараїнові барвники генерують активні форми Оксигену при опроміненні червоним світлом та спричиняють загибель клітин у безсироватковому середовищі. Барвники з N,N'-алкільними гідрофільними групами не демонстрували токсичність у присутності 5% бичачого альбуміну навіть за їх високих концентрацій. В той же час для сквараїнового барвника із N,N'-метильними замісниками виживання клітин MCF-7 при опроміненні лазером знижувалось майже на 40% за концентрації 0,1  $\mu\text{M}$  і майже на 90% за концентрації 10  $\mu\text{M}$ , навіть за присутності альбуміну. Отже, сквараїновий барвник із N,N'-метильними замісниками може використовуватися як потенційний фотосенсибілізатор для фотодинамічної терапії.

2. Syniugina A. T. Intraionic dyes as probes for fluorescence visualization of cells and potential reagents for photodynamic therapy – Qualification scientific work on the right of a manuscript. The thesis for a scientific degree of Doctor of Philosophy by speciality 091 – Biology (09 – Biology) – Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine, Kyiv, 2023. The dissertation is dedicated to the search for new fluorescent intramolecular polymethines based on merocyanine and squaraine dyes as reagents for cell visualization and photodynamic therapy. Fluorescent visualization using polymethine dyes is an important tool for biomedical research. Fluorescent dyes that absorb and emit in the far-red and near-infrared region are broadly applicable in

many biological studies. Polymethine dyes have found applications as fluorescent labels and probes for tracking biomolecules, as contrast agents, and in photodynamic therapy due to their high quantum fluorescence yields and structural modification capabilities. Long-wavelength polymethine dyes are used as fluorescent tags for tracking biological molecules, as reagents for cell visualization, and as photosensitizers for conducting photodynamic therapy. The main group of dyes used is cationic cyanine dyes, which can selectively accumulate in the mitochondria of cancer cells. However, such selectivity can have a negative impact on the biodistribution of their conjugates. The objective of this work is to develop long-wavelength neutral or zwitterionic polymethine fluorophores, study their spectral-luminescent properties in free form and as conjugates, interactions with proteins of different nature, penetration into cells, and their photodynamic properties. Novel series of merocyanine dyes based on variations of heterocycles were synthesized. All synthesized dyes absorbed in the far-red spectral range, making them attractive candidates for further investigation as long-wavelength fluorescent probes in biovisualization. Using spectral-luminescent methods, their spectral characteristics have been studied in methanol, aqueous buffer, and in the presence of proteins of various structures. It has been established that merocyanines non-covalently bind to serum albumins. Based on experimental data, binding constants with human serum albumin were determined. It has been shown that the introduction of a bulky substituent into the meso-position leads to an increase in the binding constant with human serum albumin. According to the results of molecular docking, the studied dye binds to up to five binding pockets on human albumin due to hydrophobic interactions with amino acid residues. This makes them stable and resistant to dissociation. The formation of the complex is accompanied by significant changes in the spectral-luminescent properties of the dye. This results in an increase in fluorescence intensity, quantum yields, and shifts in the absorption maxima into the long-wavelength part of the spectral range. Flow cytometry and fluorescence microscopy results show that the compounds penetrate into cells. Co-localization with a mitochondrial-specific dye and a nuclear chromatin-specific dye indicates that the merocyanines localize in mitochondria without strong specificity for the nucleus and do not penetrate it. Furthermore, MTT tests showed that dyes with phenyl and aminobisphenyl substituents at the meso-position of central rings do not exhibit cytotoxicity to MCF-7 cells within the studied concentration range and a 24-hour incubation period. Among the intramolecular dyes, in addition to neutral ones, betaine (zwitterionic) dyes are included. In these dyes, the organic cation and anion are linked by a system of conjugated bonds, and their positive and negative charges are distributed across the chromophore atoms. On the MCF-7 cell line, the dark and light toxicity of dyes with methyl, sulfo, and carboxylic N,N'-substituents has been investigated. According to the results of the MTT assay, it was found that all compounds generate reactive oxygen species after irradiated with red light and lead to cell death. The presence of 5% bovine serum albumin affected the toxic effect of the studied dyes. In the case of dyes with hydrophilic substituents, no toxicity was detected at the given concentrations, whereas for the dye with methyl substituents, the viability of MCF-7 cells decreased by almost 40% at a concentration of 0.1  $\mu\text{M}$  and nearly 90% at a concentration of 10  $\mu\text{M}$  when irradiated with a laser. This indicates the toxicity of this fluorophore even in the presence of albumin.

**Державний реєстраційний номер ДіР:**

**Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:** Нові речовини і матеріали

**Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:** Освоєння нових технологій виробництва матеріалів, їх оброблення і з'єднання, створення індустрії наноматеріалів та нанотехнологій

**Підсумки дослідження:** Нове вирішення актуального наукового завдання

**Публікації:**

- Syniugina A., Malanchuk O., Chernii S., Bdzhola A., Horbatok K., Syniugin A., Yarmoluk S. "The squaraine derivatives as potential photosensitizers in photodynamic therapy of cancer". *Biopolymers and Cell*, 2023; 39(1):3-13

- Ishchenko, A., Syniugina A. Structure and Photosensitizer Ability of Polymethine Dyes in Photodynamic Therapy: A Review. Theoretical and Experimental Chemistry, 2023; 58(6):373 – 401
- Синюгіна, А., Іщенко, О. Вплив агрегації бензоіндоскваїнів на генерацію синглетного кисню; Доповіді Національної академії наук України, 2023; (4), 60–67
- Syniugina A., Chernii S., Losytskyi M., Ozkan H.G., Slominskii Yu., Syniugin A., Pekhnyo V., Mokhir A., Yarmoluk S. “N-alkyl functionalized squaraine dyes as fluorescent probes for the detection of serum albumins”. Biopolymers and Cell, 2022; 38(2):103-116
- Syniugina A., Chernii S., Losytskyi M., Syniugin A., Slominskii Y., Balanda A., Özkan G., Mokhir A., Kovalska V., Yarmoluk, S. “The synthesis and study of novel merocyanine probes for protein detection and cells visualization” Journal of Photochemistry and Photobiology, 2021, 7, 100046

**Наукова (науково-технічна) продукція:** матеріали; методи, теорії, гіпотези

**Соціально-економічна спрямованість:** поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

**Охоронні документи на ОПВ:**

**Впровадження результатів дисертації:** Планується до впровадження

**Зв'язок з науковими темами:**

## **VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Ярмолук Сергій Миколайович
2. Sergiy M. Yarmoluk

**Кваліфікація:** д.х.н., професор, 02.00.10

**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0002-5898-6103

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417101

**Місцезнаходження:** вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

## **VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів**

**Офіційні опоненти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Векліч Тетяна Олександрівна

2. Tetiana Veklich

**Кваліфікація:** д. б. н., старший науковий співробітник, 03.00.04

**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0001-9499-4568

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417288

**Місцезнаходження:** вул. Леонтовича, буд. 9, Київ, 01054, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Фрасинюк Михайло Сергійович

2. Mikhaylo S. Frasiyuk

**Кваліфікація:** д. х. н., старший науковий співробітник, 02.00.10

**Ідентифікатор ORCID ID:** 000-0003-3133-601X

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 03563790

**Місцезнаходження:** вул. Академіка Кухаря, буд. 1, Київ, 02094, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

**Рецензенти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Дубей Ігор Ярославович

2. Igor Y. Dubey

**Кваліфікація:** д. х. н., с.н.с., 02.00.10

**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0003-4023-4293

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417101

**Місцезнаходження:** вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Мошинець Олена Володимірівна

2. Olena V. Moshynets

**Кваліфікація:** к. б. н., старший науковий співробітник, 03.00.11

**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0002-2209-8681

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417101

**Місцезнаходження:** вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

## VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
голови ради**

Сергеева Тетяна Анатоліївна

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
головуючого на засіданні**

Сергеева Тетяна Анатоліївна

**Відповідальний за підготовку  
облікових документів**

Крупська І.В.

**Реєстратор**

УкрІНТЕІ

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є  
відповідальним за реєстрацію наукової  
діяльності**



Юрченко Тетяна Анатоліївна