

Премія Президента України для молодих вчених

Презентація наукової роботи на тему:

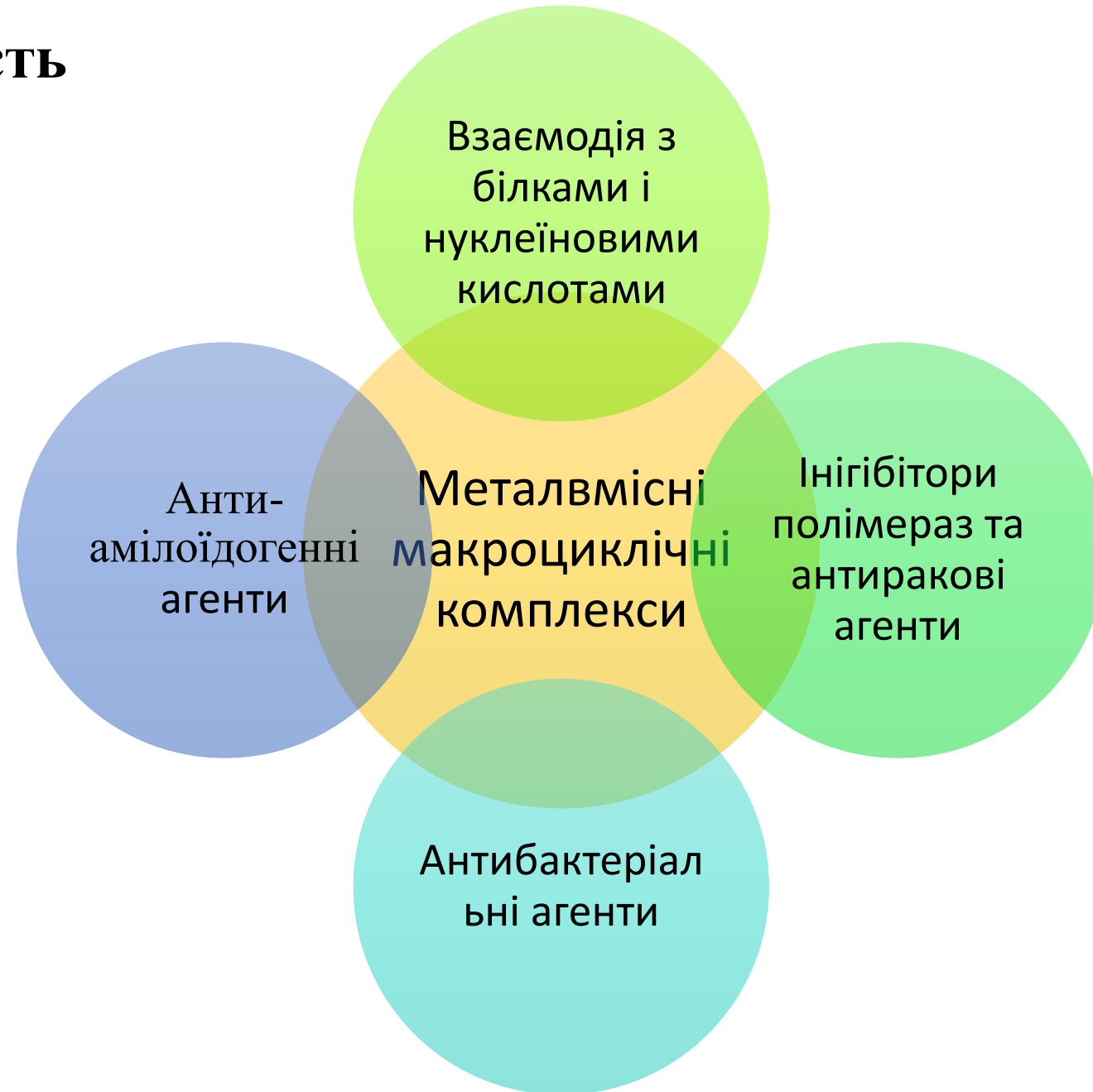
Синтез, характеристика та вивчення металвмісних макроциклічних комплексів

Автори: Селін Р.О.¹, Черній С.В.², Штоквиш О.О.¹

¹*Інститут загальної та неорганічної хімії ім. В.І. Вернадського НАН України*

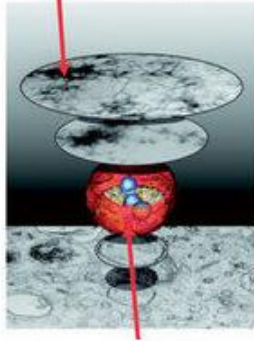
²*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України*

Актуальність

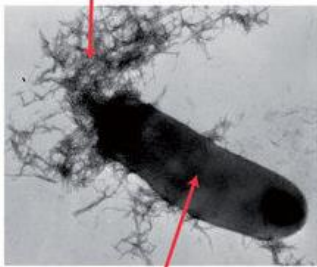


Актуальність

Pmel17 scaffold



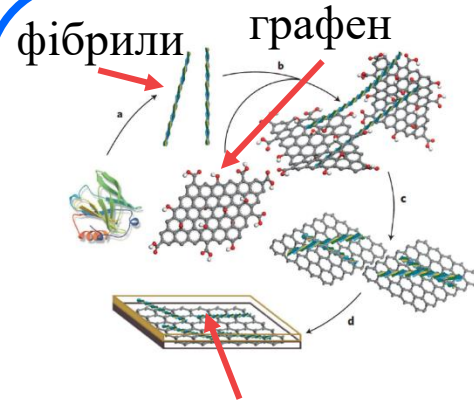
меланосома
завитки *E.coli*



E.coli

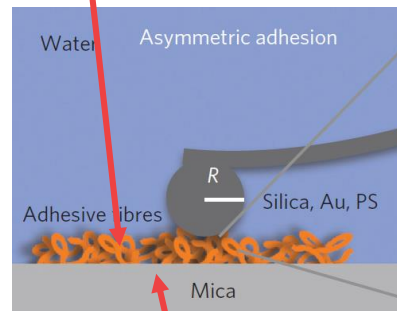
**Функціональн
і амілоїди**

Knowles T., 2016;



НАНОКОМПОЗИТ

фібрили

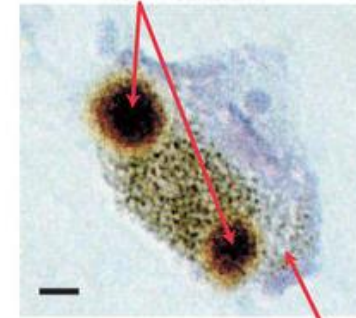


адгезивна поверхня

**Функціональн
і матеріали**

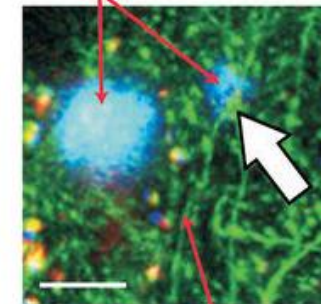
Pham C., 2014;

тільця Леві



нейрон

Аβ бляшки



нейрон

**Патологічні
амілоїди**

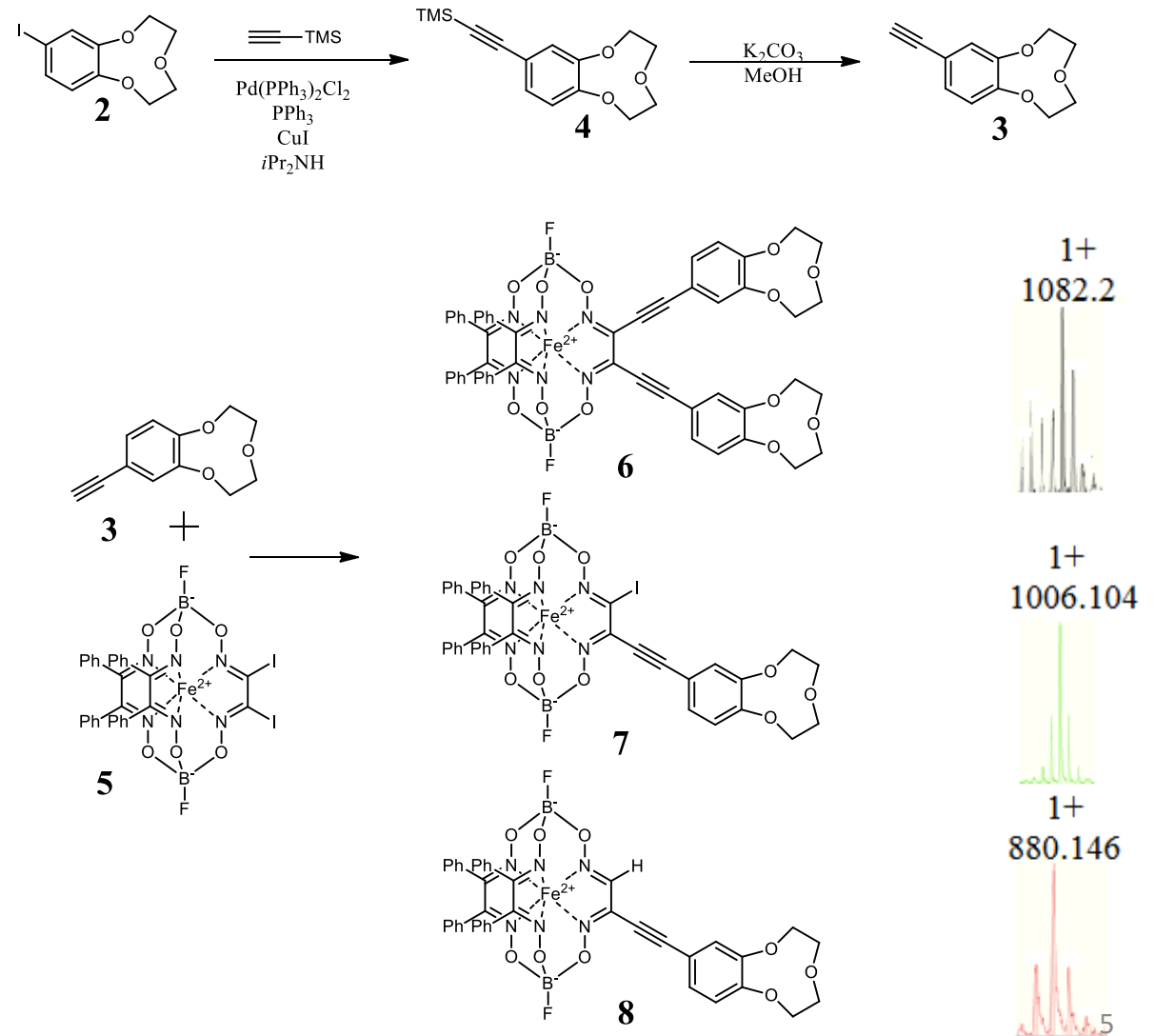
Eisenberg D., 2012

В роботі синтезовано серію металовмісних макроциклічних комплексів, досліджено їх структуру, хімічні та біологічні властивості:

- ✓ Вперше синтезовані клатрохелатні комплекси заліза (II) з йон-рецепторними бензо-краун групами.
 - ✓ Вперше синтезовані несиметричні клатрохелатні комплекси з кінцевими етинільними групами та відповідні флуоресцентно модифіковані клатрохелатні комплекси заліза (II).
 - ✓ Вивчено стабільність отриманих структур в різноманітних середовищах.
 - ✓ Записані CD-спектри для клатрохелатних флуоресцентно мічених комплексів з протеїнами та вивчено досліджено їх накопичення в ракових клітинах.
 - ✓ Вивчено процеси комплексоутворення металів з дикетонатами 3d – металів.
-
- ✓ Вперше досліджено інгібуючу активність гексакарбоксіфенілфункціоналізованого клатрохелату заліза (II) та серії фталоціанінів та порфіразинів різної геометрії на процес фібрилоутворення білків.
 - ✓ Показано, що досліджені комплекси залежно від структури можуть перенаправляти процес агрегації у бік формування різних типів білкових агрегатів.
 - ✓ Визначено, що здатність фталоціанінових комплексів до самоасоціації корелює з їх інгібуючою активністю в реакції фібрилоутворення білків. Вперше показано можливість використання фталоціанінів для визначення амілоїдних фібрил методом поверхнево підсиленої раманівської спектроскопії.

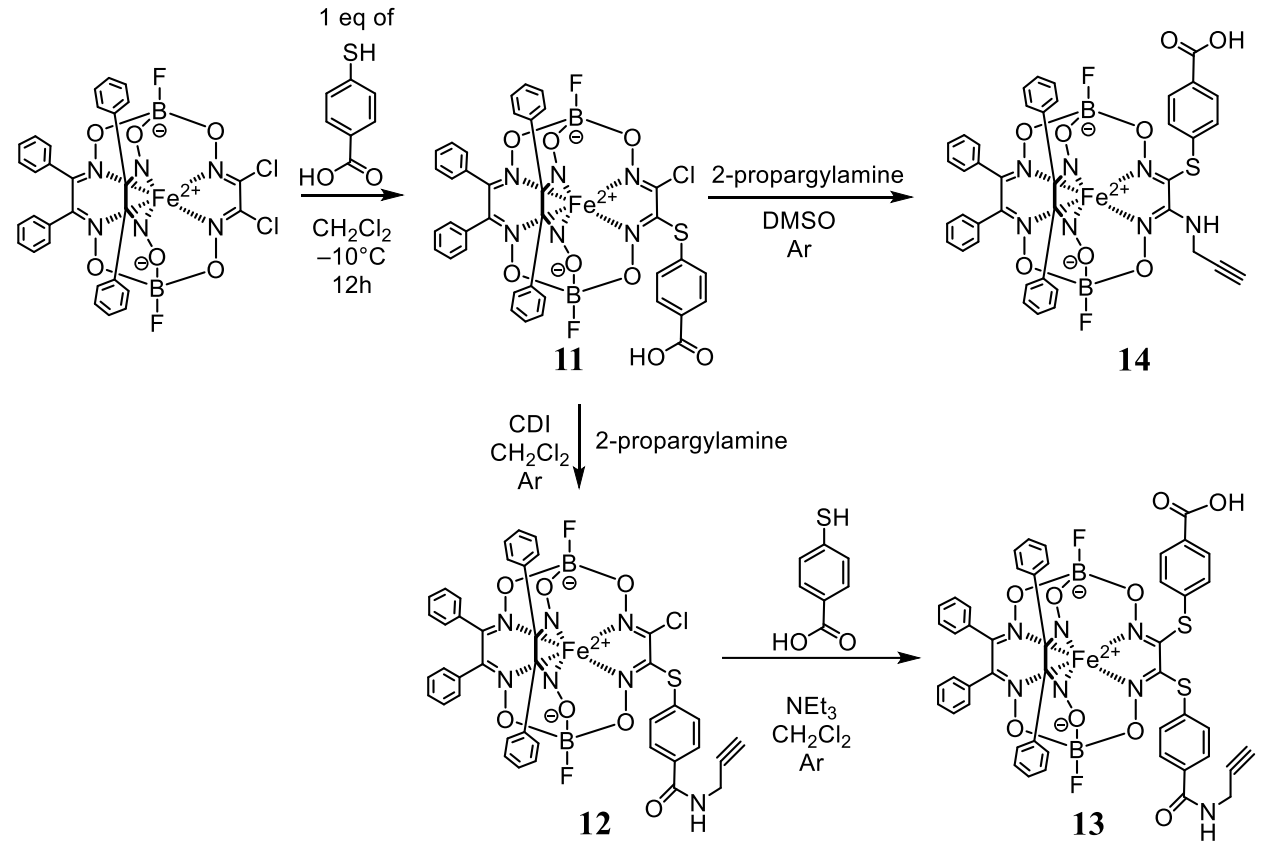
Синтез клатрохелатних комплексів заліза (II) з іон-рецепторними групами

Було відпрацьовано реакцію модифікацію бензо-9-краун-3 ефірів, які можуть виступати як іон рецепторні групи, етинільним фрагментом та відповідно модифіковано дийодклатрохелатний комплекс заліза (II) по реберним положенням в умовах реакції Соногашира. В результаті отримано суміш продуктів реакції, основним компонентом якої є продукт відновлювального дегалогенування (8). Показано, що умови реакції Соногашира є незадовільними для реберної модифікації клатрохелатних комплексів заліза (II).



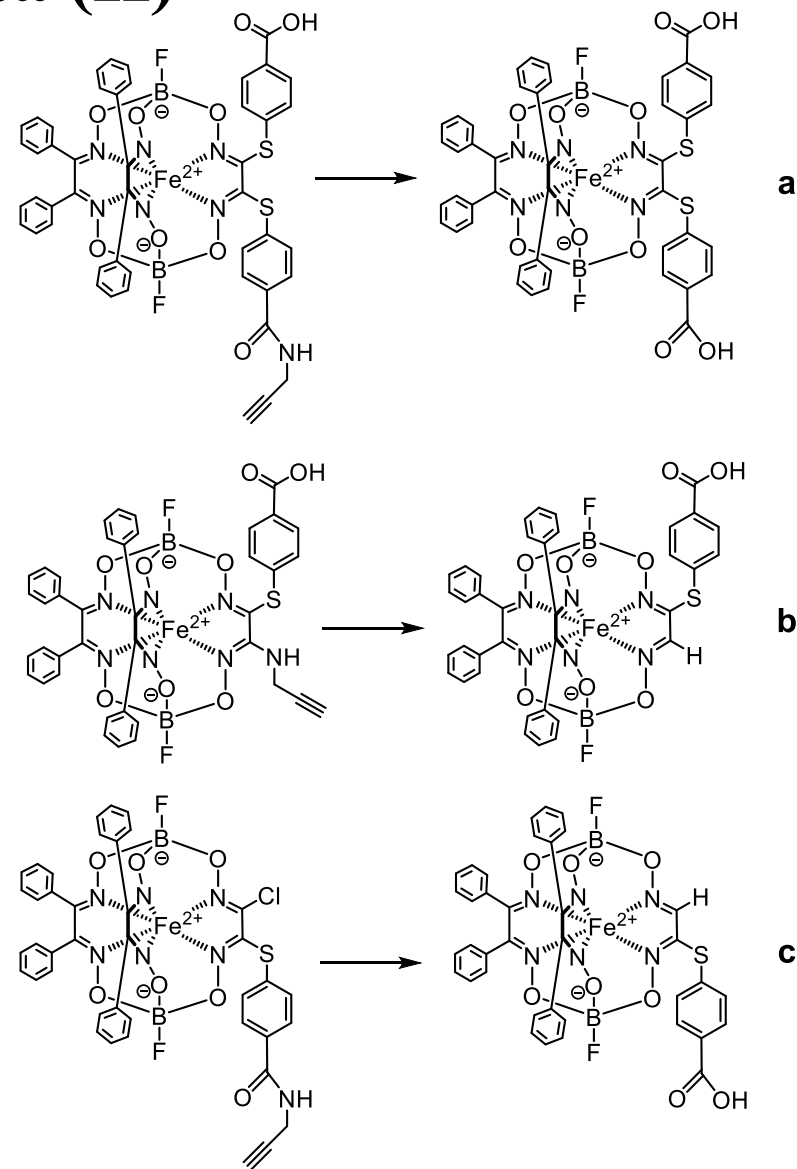
Синтез клатрохелатних комплексів заліза (II) з етинільними групами

Синтезовано несиметричні пропаргіламіні клатрохелатні комплекси заліза. Під час реакції було помічено аномальну низьку стабільність пропаргіламінінних груп (наступний слайд). В залежності від розчинника відбувалась деструкція пропаргіламінінних і пропаргіламідних груп, що є досить аномальним явищем. Було підібрано умови синтезу і вивчено стабільність отриманих комплексів в різноманітних середовищах. Отримані комплекси є перспективними для дослідження протиракової активності клатрохелатів заліза (II).



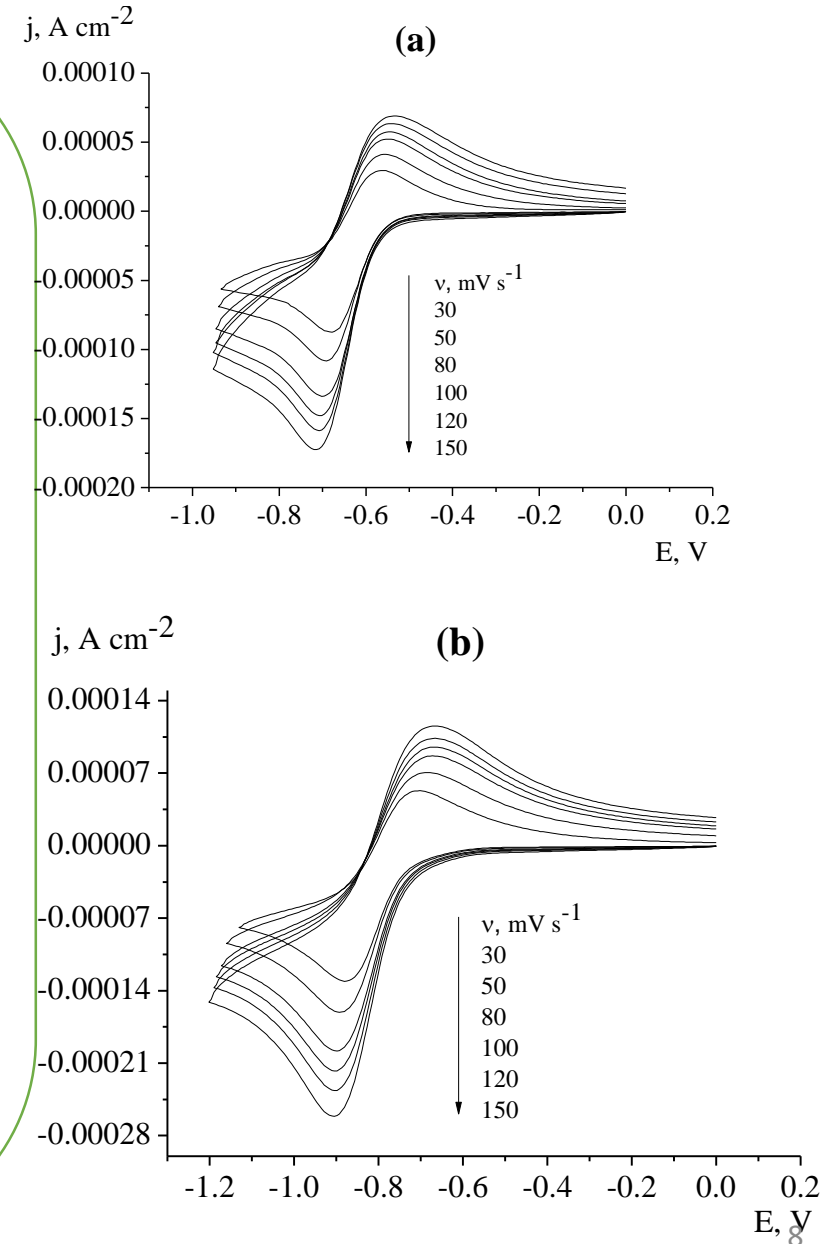
Деградація пропаргіламінних і пропаргіламідних груп в клатрохелатних комплексах заліза (II)

Помічено, що в залежності від якості розчинника при проведенні реакції і методу очистки може відбуватися деградація пропаргіламідних груп. Встановлено, що в присутності навіть слабких лугів та води відбувається деструкція пропаргіламідного фрагменту до атому гідрогену (b), а пропаргіламідного до відповідної кислоти (a). Однак, в нейтральних і слабокислих середовищах подібної закономірності не спостерігається. Ми можемо зробити примушення, що це є результатом впливу клатрохелатного остову. Наразі ми працюємо над встановленням механізму цієї реакції.

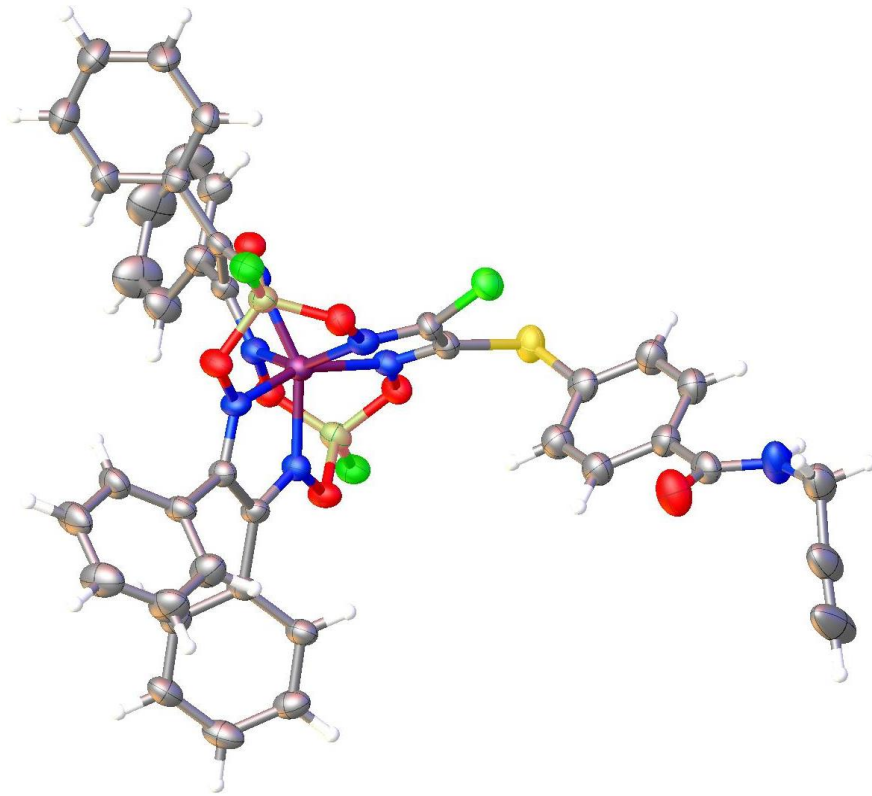


ЦВА етинільмісних клатрохелатних комплексів заліза (II)

Записано ЦВА клатрохелатів **13** і **14**. Різниця потенціалів катодного і анодного піків становить 170-233 мВ і 118-176 мВ для клатрохелатів **14** і **13** відповідно в залежності від швидкості розгортки 30-150 мВ · с⁻¹. Співвідношення струму піку анодного (i_{pa}) до струму піку катодного (i_{pc}) приведена в табл.2 і склала 0.83-0.91 і 0.74-0.71. Отже, окислювально-відновлювальна хвиля редокс пари Fe²⁺ / Fe⁺, яка спостерігається в катодній області ЦВА, є квазіоберненою. Можна сказати, що клатрохелати заліза (II) **13** і **14** мають одну редокс пару Fe²⁺ / Fe⁺ в катодній області потенціалів. Квазіобернене електрохімічне окислення-відновлення центрального іона заліза Fe²⁺ ↔ Fe⁺ для клатрохелатів **13** і **14** на скловуглецевому електроді лімітується дифузійним процесом. Помічено, що функціональна пропаргіламідна група клатрохелата **13** проявляє каталітичний ефект на катод відновлення Fe²⁺ / Fe⁺ в порівнянні з пропаргіламіною групою клатрохелата **14**.



Будова клатрохелатного комплексу 13 за результатами РСА

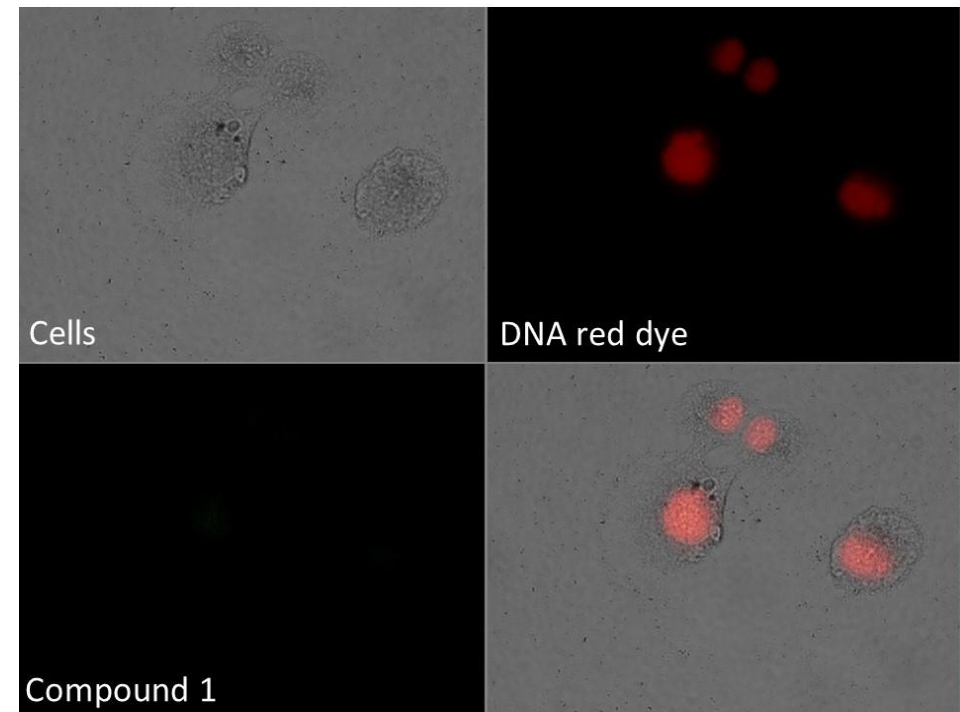
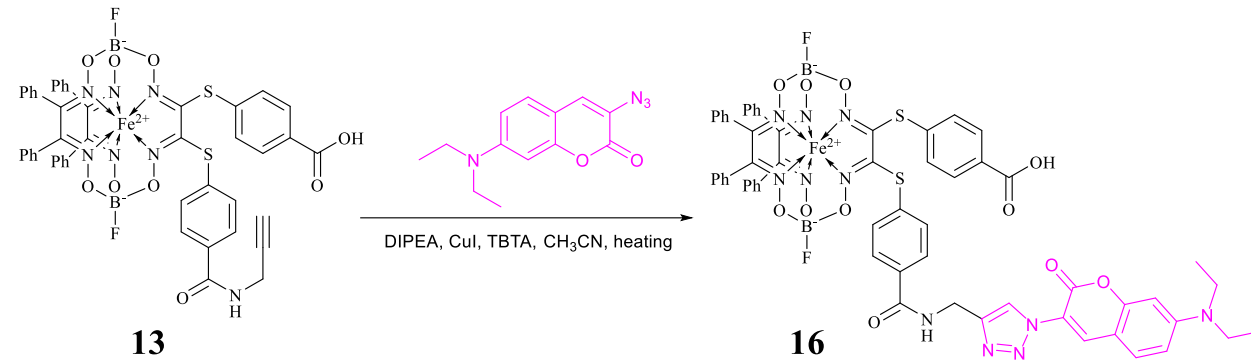


Параметр	13
Fe – N (Å)	1.883(4) – 1.901(4) av. 1.895
B – O (Å)	1.461(7) – 1.489(7) av. 1.479
N – O (Å)	1.368(5) – 1.380(5) av. 1.375
C=N (Å)	1.301(6) – 1.315(6) av. 1.308
C – C (Å)	1.445(7) – 1.454(7) av. 1.449
N=C–C=N (°)	7.3(2) – 10.2(6) av. 9.1
φ (°)	26.1
α (°)	78.4
h(Å)	2.30

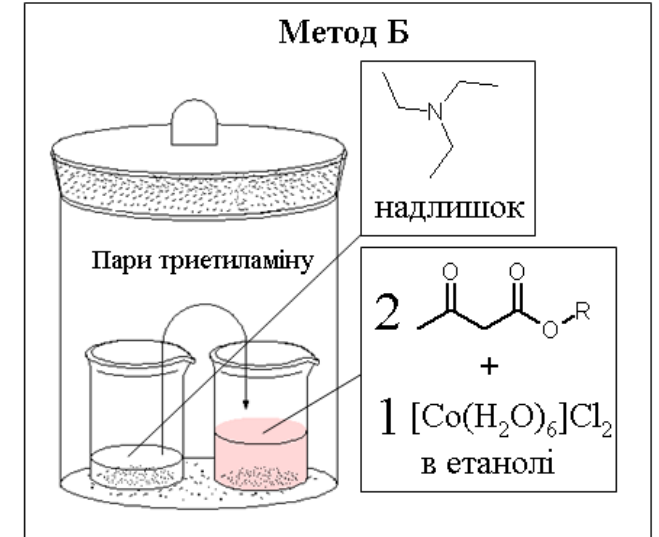
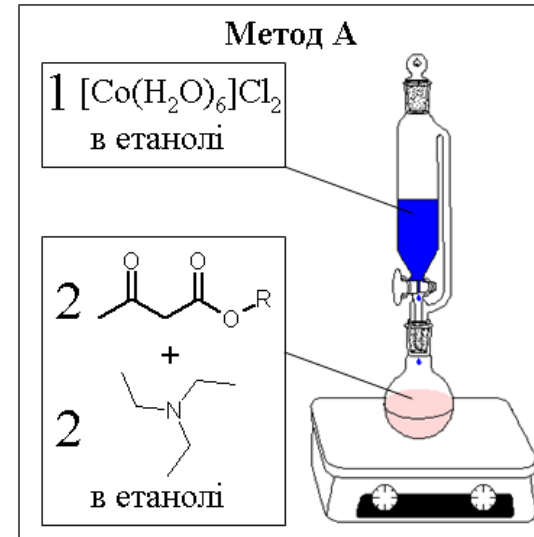
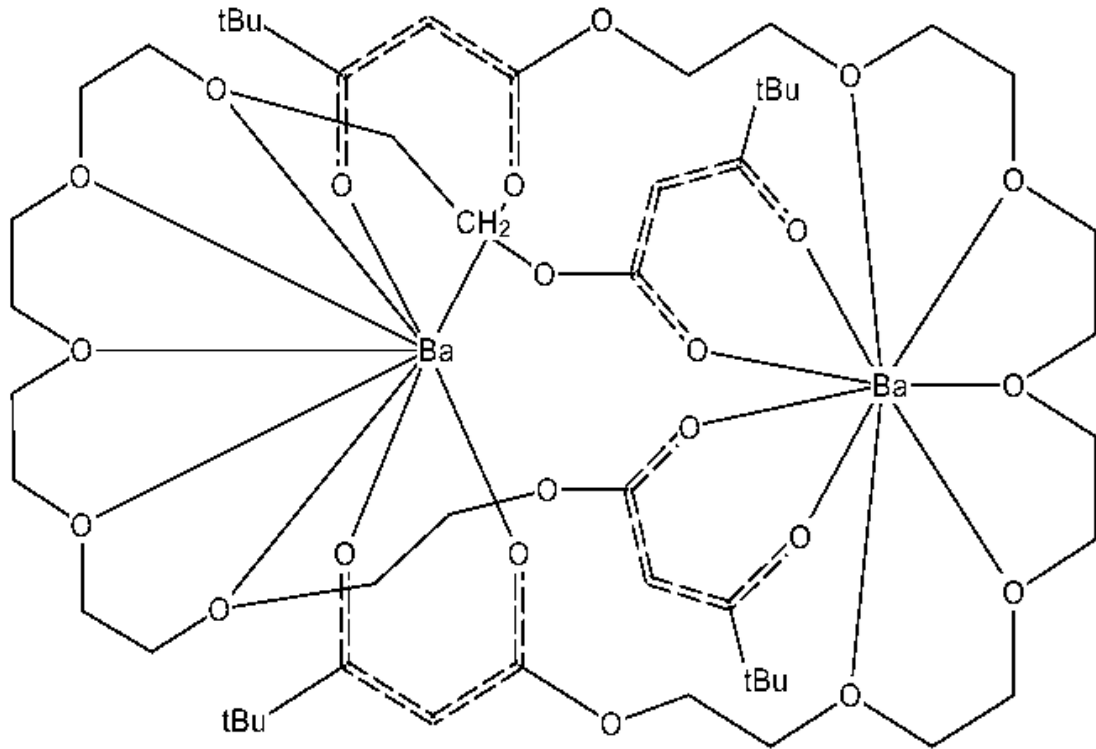
Молекулярна структура клатрохелата 13, отримана за допомогою РСА, показана на малюнку; основні геометричні параметри каркаса клітки перераховані в таблиці 1. Поліед-координаційний FeN_6 цього функціоналізованого клатрохелата з одним нееквівалентним хелатним α -діоксиматним фрагментом має спотворену трикутну призматичну (Т.П.) - тригонально-антипризматичну (ТАР) геометрію із середнім кутом викривлення φ приблизно 26,1 °.

Модифікація етинільмісних клатрохелатних комплексів заліза (II) флуоресцентними групами

Вперше синтезовано несиметричні клатрохелатні комплекси заліза (II) з флуоресцентною кумаріновою групою, досліджена будова отриманого комплексу та люмінісентні властивості, а також накопичення в ракових клітинах. Показано, що ефект гасіння флуоресценції є суттєвим і використання кумаринів як флуоресцентних міток для подібних комплексів є неможливим (відсутність сигналу в клітинах). Однак, завдяки відсутності сигналу, підтверджено, що клатрохелатний остов зберігає свою структуру. Таким чином ми можемо стверджувати, що клатрохелатний комплекс заліза (II) є стійким в середовищі клітки і не слугує діоксиматною захисною групою заліза (II), що було однією з теорій біологічної протиракової активності.



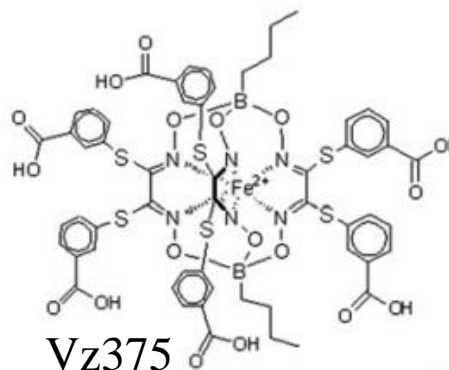
β-кетоестерати 3d-металів. Синтез, структура та властивості



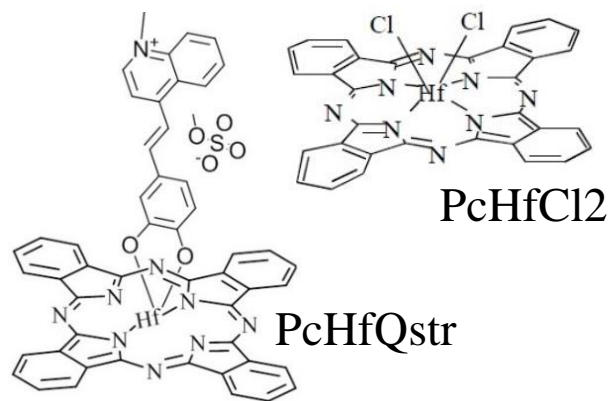
Синтезовано серію β-кетоестератів двома способами. Встановлено залежність будови комплексів від умов проведення реакції. Записані РСА β-кетоестератів та досліджені їхні властивості. Результати цієї частини роботи є фундаментальними для розуміння процесів комплексотворення.

Вивчення активності металвмісних комплексів як інгібіторів патологічної амілоїдної агрегації білків

Досліджувані сполуки

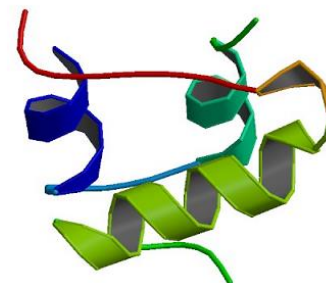


Клатрохелати

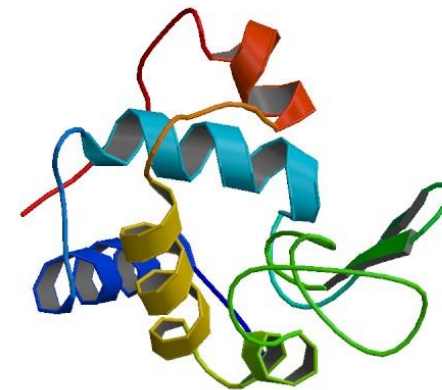


Фталоціаніни

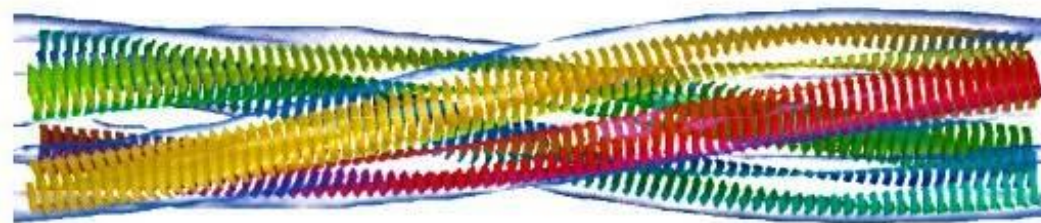
Модельні об'єкти фібрилоутворення



Інсулін

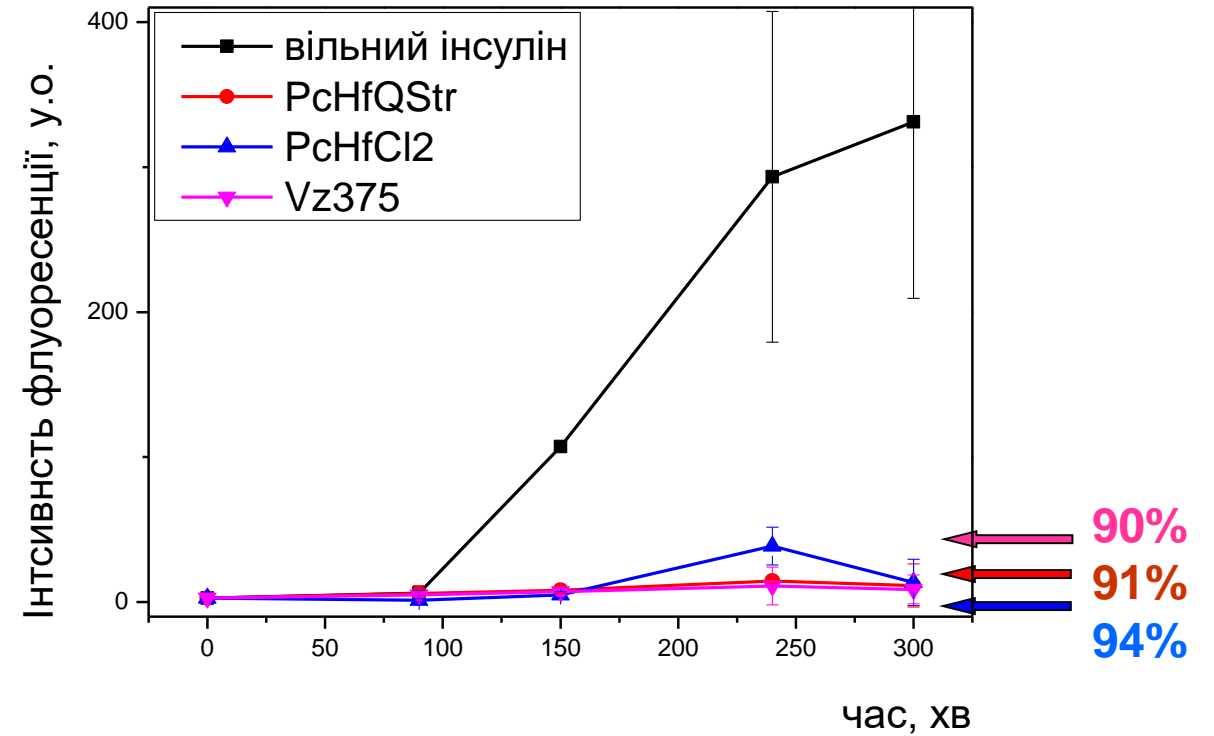
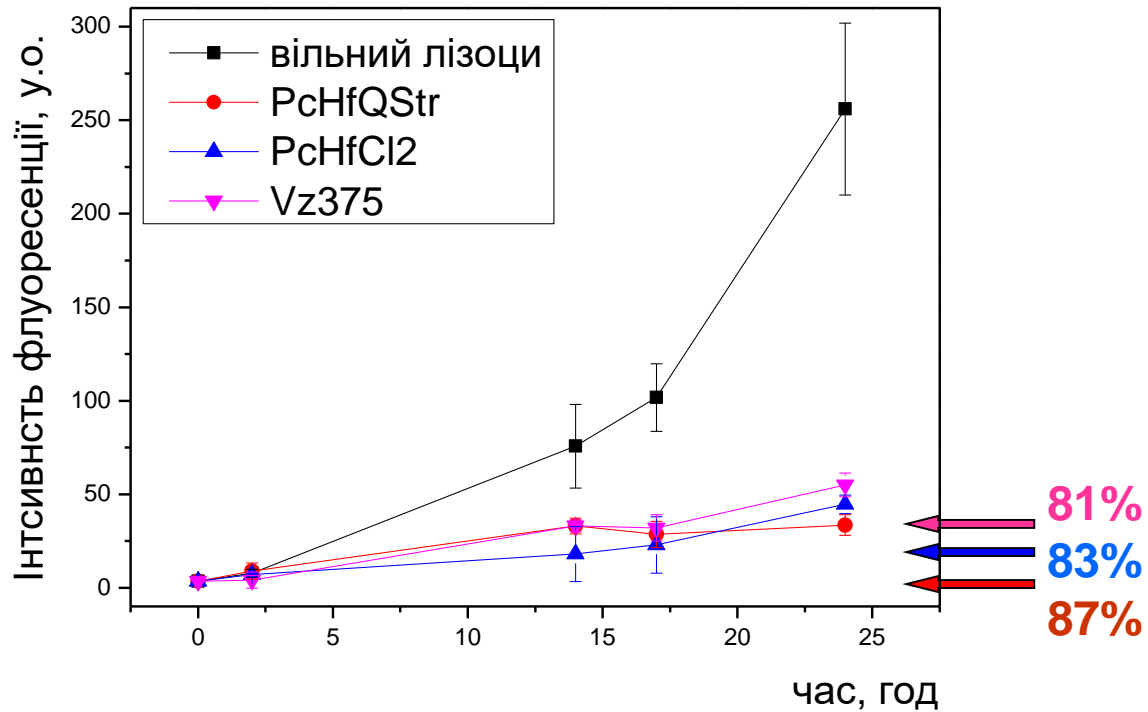


Лізоцим



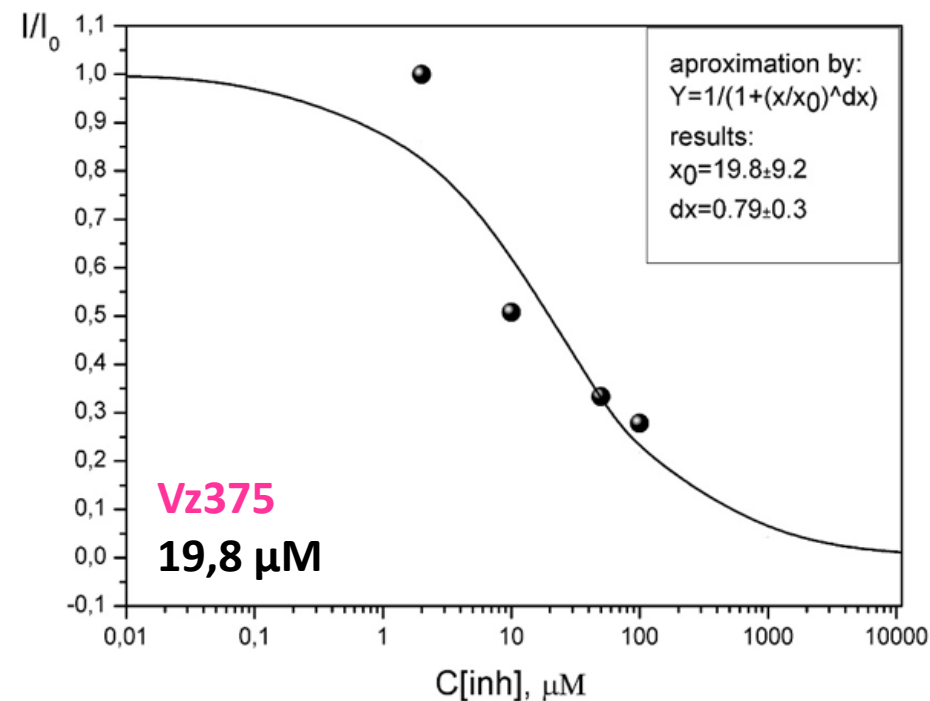
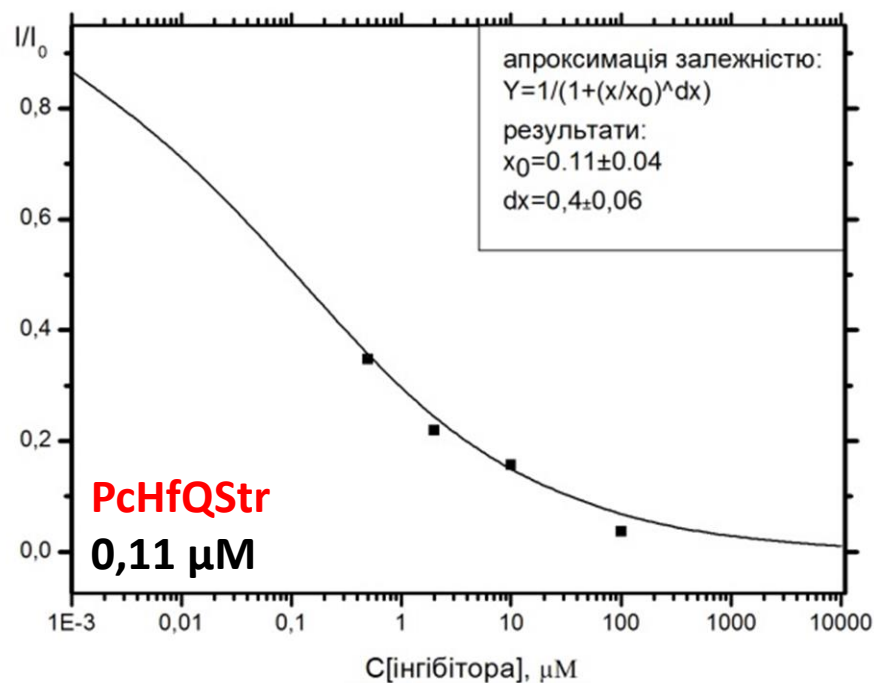
Амілоїдна фібрила інсуліну

Оцінка інгібуючої активності аксіально-координованих фталоціанінів та клатрохелату на кінетику амілоїдної агрегації лізоциму та інсуліну



Було досліджено зміни кінетики амілоїдної агрегації лізоциму та інсуліну у присутності металвмісних макроциклічних комплексів. Показано, що фталоціаніни гафнію з хіноліновим стириловим фрагментом та двома атомами хлору, а також гексакарбоксіфенілфункціоналізований клатрохелат заліза(II) найсильніше пригнічують кінетику амілоїдної агрегації, інгібуюча активність становить близько 90%.

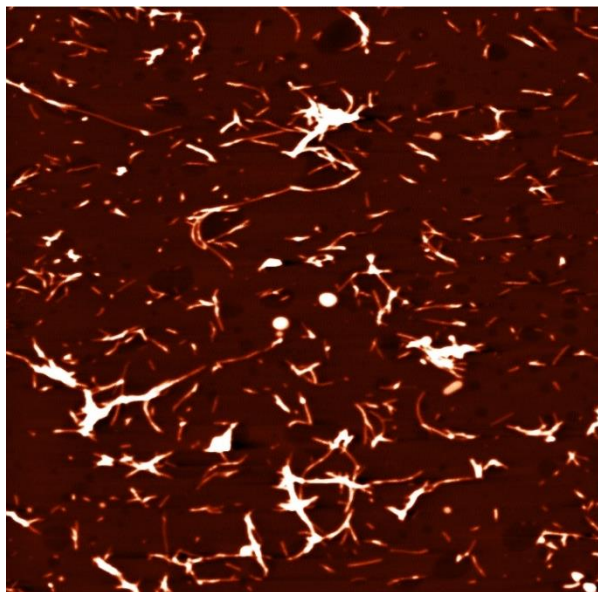
Графіки залежності I/I₀ від концентрації інгібітору амілоїдної агрегації інсуліну (Ефективна концентрація інгібітору)



Фталоціанін з хіноліновим стириловим фрагментом є високоактивним інгібітором амілоїдної агрегації через значення його ефективної концентрації інгібітору.

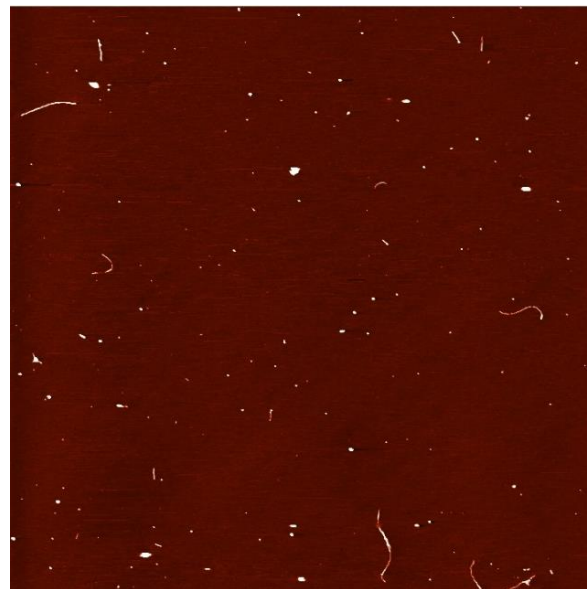
Дослідження продуктів реакції амілоїдної агрегації інсуліну методом атомно-силової мікроскопії

Інсулін



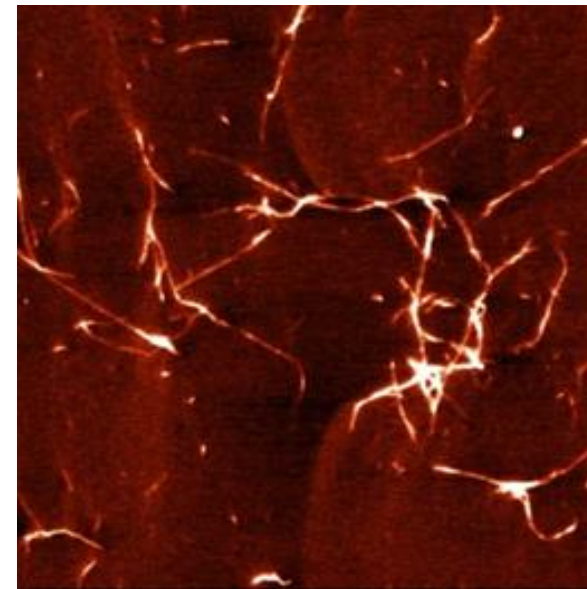
Фібрили – 2-6 нм Ø
Кластери фібрил~16 нм

Інгібований PcHfQStr



Протофіламенти – 0,8-1,2 нм Ø
Фібрили – 2,0-5,0 нм Ø

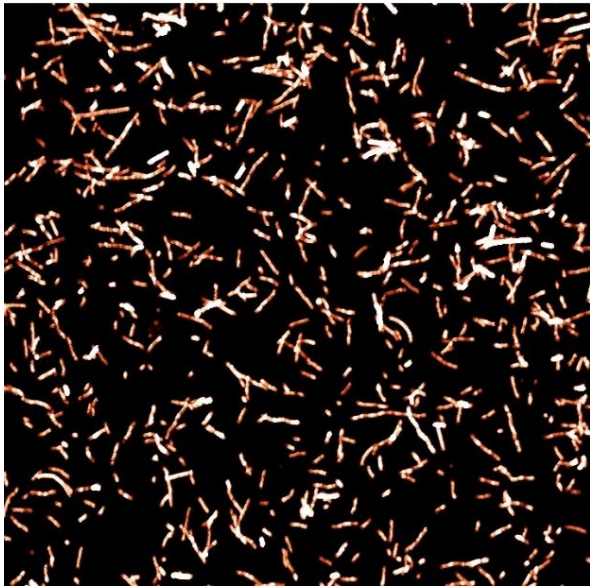
Vz375



Фібрили – 0,8-2,0 нм Ø

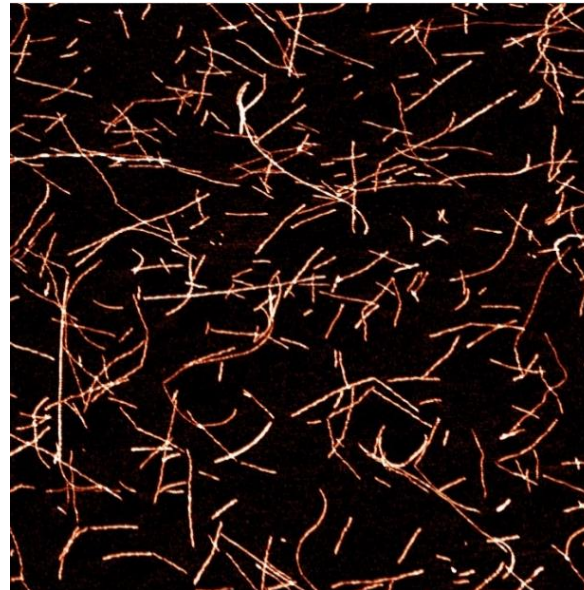
Дослідження продуктів реакції амілоїдної агрегації лізоциму методом атомно-силової мікроскопії

Лізоцим



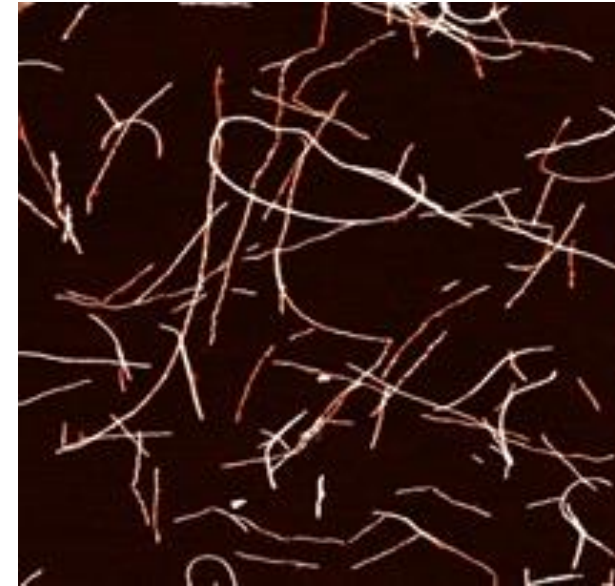
Фібрили – 3,0-5,0 нм Ø
– 0,1-0,6 μм L

Інгібований PcHfQStr



Фібрили – 2,0-3,5 нм Ø
– 0,1-1,5 μм L

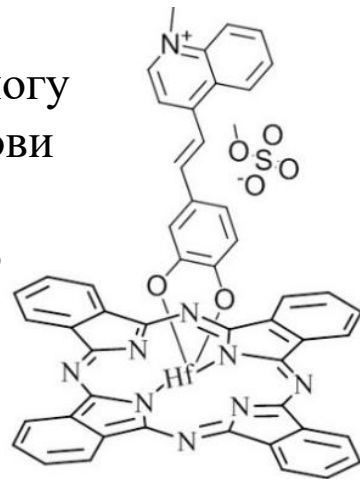
Vz375



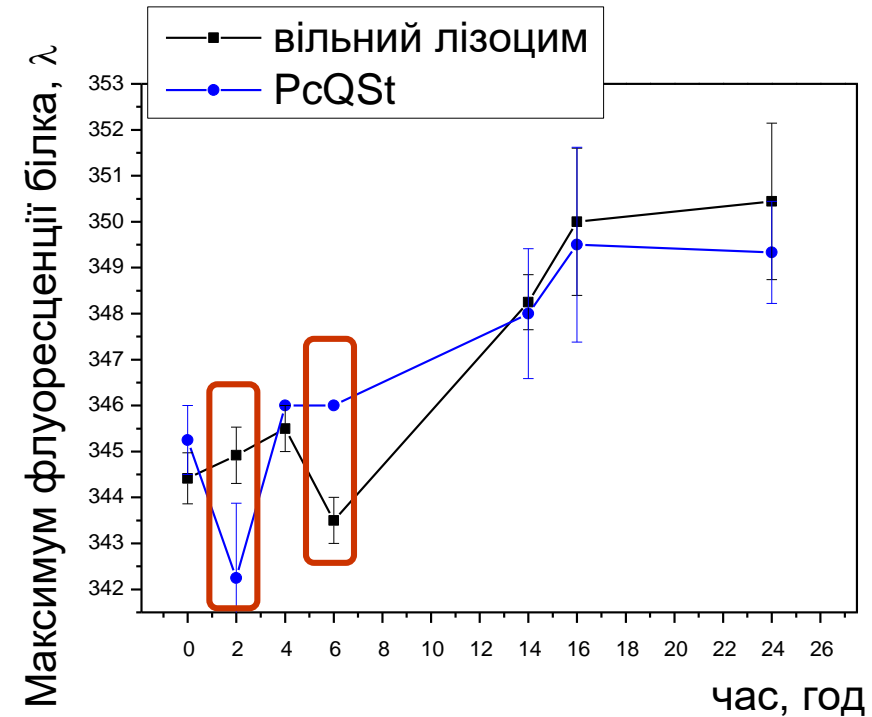
Фібрили – 1,5-2,5 нм Ø
– 0,1-2,5 μм L

Зміна власної флуоресценції лізоциму протягом реакції амілоїдної агрегації у присутності **PcHfQStr**

Для вивчення структурних перебудов білка протягом реакції амілоїдної агрегації, було досліджено зміни власної флуоресценції лізоциму. **Показано різницю у зміні довжини хвилі максимуму триптофанової флуоресценції** лізоциму за відсутності та у присутності фталоціаніну, що свідчить про зміну гідрофобності оточення триптофанових залишків. Що дає змогу припустити різницю різної передубови білка на ранніх етапах амілоїдної агрегації, що зумовлені присутністю інгібітору.



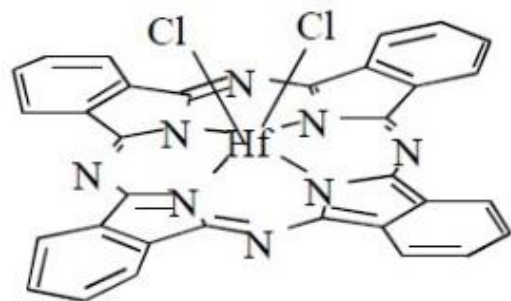
Високоєфективний інгібітор: інгібуюча активність 91%, IC₅₀ **0,11 μM**



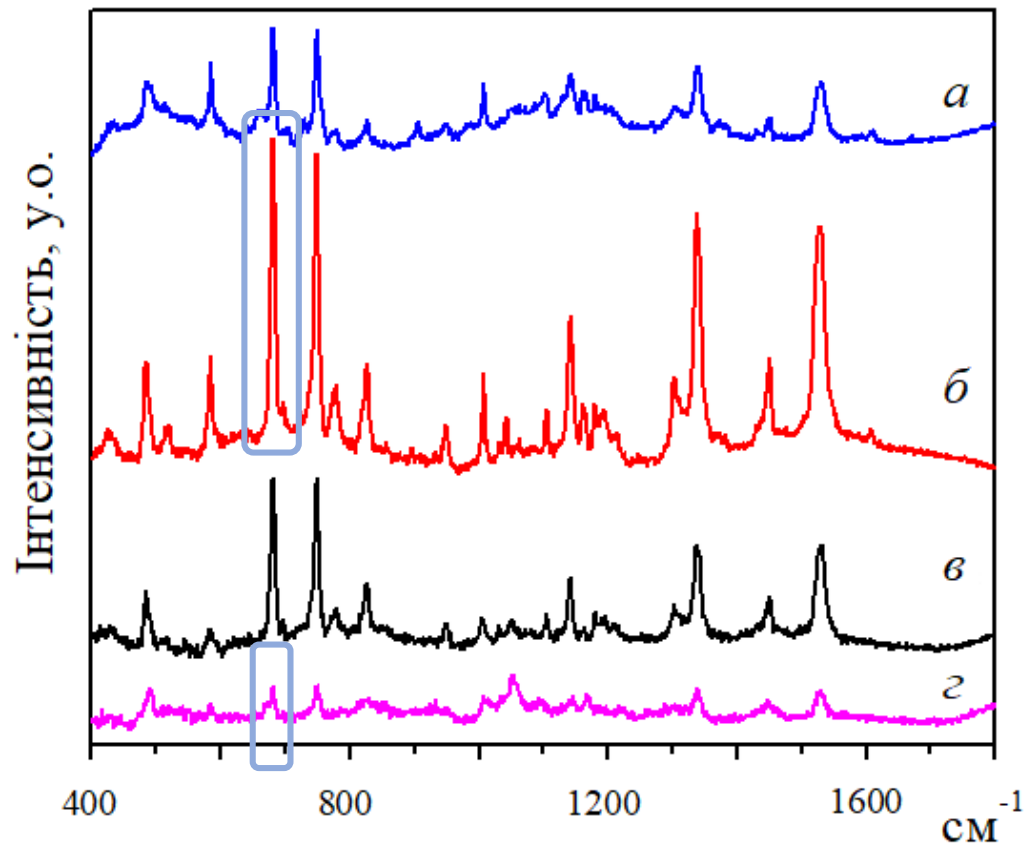
Оцінка впливу присутності інгібітору на структурні перебудови білка протягом реакції амілоїдної агрегації

Взаємодія фталоціаніну гафнію $PcHfCl_2$ з амілоїдними фібрилами

Показано підвищення інтенсивності раманівських піків фталоціаніну у присутності фібрил інсуліну, що **свідчить про взаємодію** між фталоціаніном та фібрилами. Цим методом вперше **показано можливість** використання фталоціаніну для **визначення** амілоїдних фібрил.



Високоєфективний інгібітор: інгібуюча активність 94%



Поверхнево підсилені раманівські спектри фталоціаніну гафнію дихлориду ($0,5 \mu\text{M}$) у присутності фібрил інсуліну $0,425 \mu\text{M}$ (a), $0,142 \mu\text{M}$ (b), $0,0425 \mu\text{M}$ (c), **за відсутності фібрил інсуліну** (d)

Публікації. До циклу публікацій включено 32 праці, із них 11 статей (5 з яких – в іноземних англomовних журналах з ненульовим імпакт-фактором), 21 тези доповідей у збірниках матеріалів з'їздів і конференцій, що вийшли друком з 2012 по 2018 роки. Загальна кількість посилань на публікації авторів/h-індекс роботи, згідно баз даних складає відповідно: Web of Science – 17/3, Scopus– 25/3, Google Shcolar – 30/3.

Апробація роботи. Матеріали циклу праць доповідалися на конференціях – практичний курс FEBS «Гідродинамічний та термодинамічний аналіз біологічних макромолекул та їх взаємодій» (Прага, Чехія 2018), 8 інтернаціональній конференції «Хімія нітрогенвмісних гетероциклів» в пам'ять проф. Валерія Орлава (Харків, Україна 2018), XX Науковій молодіжній конференції «Проблеми та досягнення сучасної хімії» (Одеса, Україна 2018), XIII Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії (Харків, Україна 2018), XX Українській конференції з неорганічної хімії за участю закордонних учених до 100-річчя заснування Національної академії наук України (Дніпро, Україна 2018), Міжнародній конференції 10ті Егейські дні аналітичної хімії (Чанаккале, Туреччина 2016), Нанобіофізика: фундаментальні та прикладні аспекти (Київ, Україна 2015), XIX конференції з неорганічної хімії за участю закордонних вчених (Одеса, Україна 2015), Міжнародна науково-практична конференція «Нанотехнології та наноматеріали» NANO (Буковель, Україна 2013, Львів, Україна 2014), Конференція-конкурс молодих вчених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології» (Київ, Україна 2014), 14-а Міжнародна конференція-школа «Передові матеріали та технології» (Паланга, Литва 2012) тощо.

Thank
you