Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0822U100493

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 31-01-2022

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Конєв Сергій Олександрович
2. Koniev Serhii O.

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: ні

Шифр наукової спеціальності: 102

Назва наукової спеціальності: Хімія

Галузь / галузі знань:

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 27-01-2022

Спеціальність за освітою: Високі тенології

Місце роботи здобувача: ТОВ "Науково-виробниче підприємство "Єнамін"

Код за ЄДРПОУ: 30402329

Місцезнаходження: вул.Червоноткацька, 78, м. Київ, 02094, Україна

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ДФ 26.001.255

Повне найменування юридичної особи: Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Код за ЄДРПОУ: 02070944

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

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

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

Повне найменування юридичної особи: Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Код за ЄДРПОУ: 02070944

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

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 31.21

Тема дисертації:

1. Синтез флуоресцентно-мічених амінокислот та біологічно активні пептиди на їх основі
2. Synthesis of fluorescently-labeled amino acids and biologically active peptides based on them

Реферат:

1. Дисертаційна робота присвячена вивченню спектроскопічних властивостей флуоресцентних амінокислот на основі 3-гідроксихромону, їх впливу на структуру біологічно активних пептидів, до яких вони включені, а також синтезу нових похідних флуоресцентних амінокислот на основі 3-гідроксихромону. В літературному огляді, що містить 89 посилань та 10 рисунків, описано властивості та застосування флуоресцентних амінокислот різних класів. Аналіз літератури показав, що більшість описаних прикладів стосуються амінокислот з кон'югованими хромофорами, а вибір флуоресцентних амінокислот, які могли б бути включеними в пептиди методом твердофазного пептидного синтезу відносно обмежений. Цікавими за своїми властивостями виявилися флуоресцентні амінокислоти з внутрішньомолекулярним переносом протону (ESIPT). Першим етапом було дослідження флуоресцентних аналогів антимікробного пептиду cWFW на предмет впливу флуоресцентної мітки на будову та функцію пептиду за допомогою заміни наявних в

cWFW ароматичних амінокислот на 3-гідроксихромонвмісну флуоресцентну амінокислоту (FHC). На цьому етапі була валідація мітки за допомогою CD-спектрополяриметрії та порівняння біологічної активності флуоресцентно-мічених пептидів. CD-спектр cRW-F2/FHC був найменш подібним до спектру cWFW. На відміну від цього, обидва пептиди з заміщеними Trp на FHC мітку, мали подібні спектри до спектрів cWFW. Усі мічені пептиди продемонстрували однакову (в межах помилок експерименту) бактеріостатичну активність, яка відрізнялася від МІК неміченого cWFW, але лише на два розведення. Аналіз гемолітичної активності, навпаки, виявив збільшену активність усіх трьох мічених пептидів порівняно з cWFW. Пептид cRW-F2/FHC був найбільш гемолітичним, але був менш полярним, ніж обидва аналоги cRW-Trp. Для оцінки клітинопроникної активності флуоресцентні аналоги cWFW інкубували з адгезивною культурою клітин HeLa і оцінювалась здатність пептидів проникати в клітини за допомогою конфокальної флуоресцентної мікроскопії. Мічені FHC пептиди дійсно потрапляли в клітини, демонструючи як цитозольне, так і мікросомальне проникнення. Відмінностей між трьома аналогами cWFW виявлено не було. З отриманих в результаті досліджень даних було зроблено висновок, що FHC не чинить значного порушення структури та функцій cWFW в порівнянні з нативним неміченим пептидом, а також що серед трьох аналогів, cRW-W3/FHC поводиться найближче до неміченого пептиду. Наступним кроком було дослідження фотофізичних властивостей флуоресцентних аналогів cWFW. Було зроблено та проаналізовано спектри флуоресценції пептидів (збудження при 365 нм) у PB, TFE та етанолі. Отриманні спектри, підтвердили, що положення та відносна інтенсивність смуг емісії T*/N* залежить від полярності розчинників та їх здібності до утворення водневих зв'язків. Було записано спектри поглинання для пептидів у розчинниках різної полярності. При цьому було зареєстровано значний сольватохромізм у спектрах поглинання флуоресцентних аналогів cWFW, який корелював зі змінами в спектрах емісії. Послідовне збільшення основності розчинника пояснює спектральні зміни в порядку: вода > PB > етанол > ДМФА, та не пояснює екстремального зсуву максимуму поглинання аніонної форми до 455 нм у ДМФА. Було зроблено припущення, що аномальний батохромний зсув максимумів поглинання може бути результатом внутрішньомолекулярних взаємодій бічних замісників. Гуанідинові групи катіонних залишків аргініну можуть перебувати в безпосередній близькості до залишку FHC, сприяючи утворенню аніонної форми та модулюючи квантовий вихід флуоресценції, що підтверджується молекулярним моделюванням (методом молекулярної механіки). Було проведено виміри МІК, використовуючи два репрезентативних штами бактерій: грамнегативну E. coli та грампозитивну B. spizizenii за допомогою стандартного методу дворазового розведення. Майже всі мічені пептиди продемонстрували однакову бактеріостатичну активність на грамнегативних бактеріях, яка виявилась набагато нижчою і відрізнялася від МІК природного GS (як і інвертованого) більш ніж на чотири розведення для грамнегативних і на чотири для грампозитивних бактерій. Пептиди з FHC та NMPHC продемон

2. The thesis is devoted to the study of spectroscopic properties of fluorescent amino acids based on 3-hydroxychromone, their influence on the structure of the peptide to which they are included, as well as the synthesis of new derivatives of fluorescent amino acids based on 3-hydroxychromone. The literature review, which contains 89 references and 10 figures, describes the properties and uses of fluorescent amino acids of different classes. A review of the literature has shown that most of the examples described relating to amino acids with conjugated chromophores, and the fluorescent amino acids that could be included by the solid-phase peptide synthesis (SPPS) method are relatively limited. Of particular interest are the FlAA demonstrating intramolecular proton transfer (ESIPT). In the first step was to study the fluorescent analogs of the antimicrobial peptide cWFW simultaneously for their structure and function, by individually replacing aromatic amino acids with fluorescent amino acids (FHC). The first step was the label validation using CD spectropolarimetry and biological activity of fluorescently labeled peptides. The cRW-F2/FHC spectrum was the least similar to the cWFW spectrum. In contrast, both peptides labeled with the FHC had similar spectra to the cWFW spectra. All labeled peptides showed the same (within experimental errors) bacteriostatic activity, which was relatively high and differed from the MIC of the parent cWFW by two dilutions. Hemolysis analysis, in contrast, revealed increased activity of all three labeled peptides compared to cWFW. The cRW-F2/FHC peptide was the most hemolytic but was less polar than both cRW-Trp analogs. To assess cell permeability, cWFW fluorescent analogs were incubated with HeLa cell

culture and the ability of the peptides to penetrate the cells was assessed by confocal fluorescence microscopy. FHC-labeled peptides entered the cells, demonstrating both cytosolic and microsomal penetration. No differences were found between the three cWFW analogs. From the results of the studies, it was concluded that FHC does not significantly impair the structure and function of cWFW compared to the native unlabeled peptide and that among the three analogs, cRW-W3/FHC is closest to the unlabeled peptide. The final step was to study the biodistribution of fluorescently labeled peptides in vivo using zebrafish embryos. No signs of peptide toxicity against embryos were detected within 3 hours of imaging. There was also no significant difference between the peptides. The fluorescence associated with blood vessels was observed for all peptides. This observation indicates that cWFW analogs were not soluble in plasma. The final stage of this work was the synthesis of new fluorescent amino acids based on 3-hydroxychromone. It was decided to synthesize three new N-Fmoc protected amino acids for inclusion in the peptides under study by the SPPS method: thiophene-containing analog of FHC (THC) and N-methylpyrrole-containing analog (NMPHC) and a dimethylamino group–containing analog (DMAr). The synthesis was carried out according to the scheme used for similar structures with a key stage of cyclization of chalcones to the corresponding flavones by the Algar-Flynn-Oyamadi reaction (AFO). In terms of its optical properties, Boc-THC is very close to Boc-FHC. The emission maximum of the N-methylpyrrole derivative had a bathochromic shift compared to the emission maximum of the furane-containing analog (~25 nm) and had only an N *-form peak, which may be the result of a deviation from planarity of the chromophore system. The optical properties of Boc-DMAr were like those of DMA. To validate the new amino acids, their incorporation by the SPPS method into an inverted analog of gramicidin S (GS) was used. In addition to the new amino acids, GS analogs with FHC and DMA were also synthesized for comparison. Conformational changes of the synthesized fluorescent peptides in different media were studied by CD spectropolarimetry comparing the CD spectra of labeled peptides with the corresponding spectra of natural GS and its stereoinverted analog GS-inv. From the obtained results it was concluded that inverted analogs have the same secondary structure as the natural GS - beta-hairpin.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:

Підсумки дослідження:

Публікації:

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Комаров Ігор Володимирович
2. Komarov Igor Volodimirovich

Кваліфікація: д.х.н., 02.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Тарасенко Карен Володимирович
2. Tarasenko Karen V.

Кваліфікація: к. х. н., 02.00.10

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кулініч Андрій Володимирович
2. Kulinich Andrii

Кваліфікація: д. х. н., 02.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Рябухін Сергій Вікторович
2. Riabukhin Serhii V.

Кваліфікація: д. х. н., 02.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Радченко Дмитро Сергійович
2. Radchenko Dmytro

Кваліфікація: к. х. н., 02.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради Григоренко Олександр Олегович

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні Григоренко Олександр Олегович

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності

Юрченко Т.А.