

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

**Пілецької Ксенії Олександрівни «Координаційні сполуки Re(I) з 9-метиладеніном, амінокислотами та похідними 1,2,4-триазолу»,** представлену на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.01 – неорганічна хімія.

Розробка та використання міток у діагностиці та/або терапії тих чи інших захворювань є важливими моментами у медичній практиці. Добре відомо, що одними з таких міток є сполуки, що здатні до люмінесценції, зокрема координаційні сполуки металів. До таких класів координаційних сполук, які здатні проявляти люмінесцентні властивості, належать і карбонільні комплекси ренію(I), які характеризуються високою інтенсивністю люмінесценції та гарним квантовим виходом. Вказані параметри, а також великий зсув Стокса та відносно довгий час люмінесценції дозволяють при низьких концентраціях активної речовини (комплексу) чітко зафіксувати сигнал на фоні автофлюоресценції клітин. Використання карбонільних комплексів ренію(I), зокрема частки *fac*-Re(CO)<sub>3</sub><sup>+</sup> у біосистемах сприяє також те, що така частка є дуже стійкою та не токсичною для теплокровних організмів. Добре відомо також, що фактором, який є важливим для проявлення люмінесценції, є оточення центрального атома. З цієї точки зору дієвими є ліганди, які містять у своєму складі гетероциклічні атоми нітрогену. Тому модифікація координаційного оточення ренію(I) відповідними лігандами, зокрема похідними 1,2,4-триазолу могла б привести до хороших люмінесцентних характеристик відповідних сполук.

Зважаючи на те, що вище згадані потенційні люмінесцентні мітки мають знаходитись в живому організмі, то надзвичайно важливим і цікавим є встановлення характеру їх взаємодії з складовими частинами біосистем, зокрема білків та нуклеїнових кислот (амінокислоти, пептиди, азотисті основи). Даних, що стосуються таких досліджень, в літературі небагато. Окрім того вивчення таких взаємодій є шляхом до створення так званих біомаркерів, які можуть бути цілеспрямовано доставлені до потрібних тканин/клітин.

З урахуванням сказаного представлена робота, є, безумовно, **актуальною** та цікавою **як з фундаментальної, так і з практичної точки зору.**

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планами НДР кафедри неорганічної хімії ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет» в рамках держбюджетних тем «Кластерні сполуки та наноструктурні системи на основі перехідних елементів IV-VII груп для нових біоактивних та функціональних матеріалів» (№ держреєстрації 0108U001161, 2011-2013 рр) та «Координаційні сполуки Re(I,III) та Zr(IV) як основа для синтезу біологічно активних речовин та функціональних матеріалів» (№ держреєстрації 0114U002488, 2014-2016 рр).

Дисертаційна робота Пілецької К.О. представляє собою гарно обґрунтоване, логічно побудоване, завершене наукове дослідження. Вона складається з анотації вступу, 4 розділів, висновків, додатків, списку цитованої літератури (211 найменувань). Загальний об'єм роботи складає 142 сторінки друкованого тексту (з них 9 стор. додатки), містить 66 рисунків (з них 11 у додатках) та 25 таблиць.

Обґрунтування актуальності роботи, формулювання мети та завдань роботи, відображення наукової новизни та практичної цінності одержаних результатів викладено у **вступі.**

Виконаний Пілецькою К.О. огляд літературних даних, наведений у **першому розділі**, повністю відображає стан питання, що вивчається автором. Очікувано особлива увага була приділена будові карбонільних комплексів ренію і їх фотофізичним властивостям, зокрема трикарбонільних комплексів ренію(I). Було показано, що електронна будова N-гетероциклічних лігандів дуже суттєво впливає на енергетичні рівні комплексної частки, що дає можливість регулювати її випромінювальні властивості. Результатом такого огляду стала інформативна таблиця 1.1 стосовно люмінесцентних властивостей трикарбонільних часток  $fac-Re(CO)_3^+$ .

У огляді літературних даних автор детально проаналізував можливості синтезу та будову карбонільмісних комплексних сполук ренію(I) з біомолекулами, зокрема деякими азотистими основами, амінокислотами та їх похідними. Цікавим із загальної пізнавальної точки зору є розділ 1.4, присвячений розгляду пептидів у якості так званих векторів або молекулярних носіїв, які забезпечують селективну доставку сполученої з пептидом комплексної частки до ураженої тканини організму.

Автором також показано, що трикарбонільні комплекси ренію(I) можуть виступати не лише як люмінесцентні зонди, а і як біоактивні частки, які проявляють цитотоксичність до деяких ракових ліній клітин. На основі проведеного літогляду автор обґрунтував задачі дослідження та окреслив об'єкти. Цілком обґрунтовано автором для досліджень вибрано частку  $fac-Re(CO)_3^+$ . Із літературного огляду логічно витікає також задача по синтезу кон'югатів часток  $fac-Re(CO)_3^+$  з пептидами як носіями активного комплексу.

В другому розділі наведено перелік використаних в роботі реактивів та описані методики синтезу вихідних сполук ренію. У цьому розділі коротко описані також використані автором методи дослідження та умови проведення вказаних досліджень.

Третій розділ дисертації є одним із двох базових у дисертаційній роботі і присвячений детальному аналізу підходів до встановлення молекулярної і кристалічної будови синтезованих сполук на основі частки  $fac-Re(CO)_3^+$  та 9-метилгуаніну і ряду амінокислот, що несуть потенційно бідентатну та тридентатну функцію.

У випадку 9-метилгуаніну автором на основі даних ІЧ та ПМР спектроскопії встановлений бідентатно-хелатний спосіб координації азотистої основи через атом нітрогену N7 та через нітроген аміногрупи сусіднього кільця. Цікавими є дослідження цієї сполуки методом ізотермічних витримок, які дали змогу авторові достовірно встановити стадії розкладу синтезованого комплексу. Нажаль, авторові не вдалося отримати, очевидно, монокристали цієї сполуки для того, щоб прямим методом довести безпосередній контакт центрального атома ренію з атомом нітрогену аміногрупи. На думку автора такий спосіб координації підвищує вірогідність зв'язування частки  $fac-Re(CO)_3^+$  з ДНК, хоча такий висновок можна піддати певному сумніву.

Очікувано взаємодія частки  $fac-Re(CO)_3^+$  з потенційно бідентатно-хелатними амінокислотами типу аланін, валін та ін. привела до утворення відповідних комплексних сполук із стандартною координацією амінокислоти через нітроген аміно та оксиген карбоксильної групи. Свідченнями цьому були дані ПМР та ІЧ

спектроскопії та мас-спектрометрії. Свого роду жирною крапкою у підтвердженні будови комплексів ряду  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})\text{AK}]$  став РСТА сполуки, де АК = Val (валін).

Наступним кроком у вивченні комплексних сполук трикарбонілрению(I) з амінокислотами стали потенційно тридентатні ліганди – Met, Cys та Asn. Дійсно, досить лабільні молекули води у складі комплексу  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]\text{Br}$  легко заміщуються на тридентатні амінокислотні аніони з утворенням внутрішньо-молекулярних координаційних сполук. Такий тип координації був підтверджений автором рентгеноструктурним аналізом сполуки  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{Met})]$ . Дещо несподіваним, правда, є висновок автора про координацію Asn залишка через атом нітрогену амідної групи.

Таким чином, авторові вдалося чітко показати, що частка  $fac\text{-Re}(\text{CO})_3^+$  може ефективно взаємодіяти з азотистими основами та амінокислотами, що дає змогу прогнозувати можливість згаданої комплексної частки з пептидами, білками та нуклеїновими кислотами.

У цьому місці слід зазначити, що вивчення амінокислотних комплексів не може буди адекватною моделлю для взаємодії частки  $fac\text{-Re}(\text{CO})_3^+$  з короткими пептидами і білками хоча б тому, що у складі амінокислот відсутній пептидний зв'язок.

**Четвертий розділ** дисертації присвячений власне синтезу потенційних біомаркерів на основі частки  $fac\text{-Re}(\text{CO})_3^+$  та можливостям їх кон'югації з пептидами. Для створення таких маркерів у якості лігандів були вибрані 1,2,4-дизаміщені триазоли. Будова чотирьох синтезованих сполук була запропонована на основі вивчення даних ІЧ та ПМР спектроскопії. Відповідні висновки були повністю підтверджені даними РСТА трьох із них. Детальний аналіз кристалічної будови синтезованих сполук дає можливість науковцям прогнозувати утворення можливих водневих зв'язків у нативних розчинах, що дуже часто може бути визначальним у функціонуванні біопрепаратів.

Синтезовані координаційні сполуки з триазолами були детально вивчені з точки зору їх люмінесцентних властивостей, тобто на можливість їх використання як біомаркерів. Було встановлено, що найбільш перспективною сполукою є комплекс з 5-(2-гідроксифеніл)-3-(піридин-2-іл)-1,2,4-триазолом, оскільки він має максимальний

зсув Стокса, найбільший квантовий вихід та найдовшу тривалість життя люмінесценції. Логічним продовженням з точки зору використання такого маркера було вивчення стійкості комплексу в умовах, що близькі до нативних. Незначна (біля 4,5%) зміна інтенсивності максимуму поглинання цієї сполуки з часом (1 доба) у етанол-фосфатному буфері (рН=7,4, що дуже близько до рН крові) дозволило авторові зробити висновок про достатню стійкість потенційного маркера та про можливість його використання у біосистемах.

Своєрідним заключним хімічним акордом в проведених дослідженнях була розробка біомаркерів та їх сполучення з поліпептидом. Для цього автором був синтезований комплекс частки  $fac-Re(CO)_3^+$  з 4-метил-2,2'-біпіридин-4'-карбоною кислотою. Слід зазначити гарне обґрунтування вибору цього ліганду, оскільки комплекс з ним має чудові фотофізичні властивості, а наявність доступної карбоксильної групи надає можливість шляхом пептидного синтезу приєднати комплексну частку до бажаного пептиду (у випадку автора – до  $[Leu^5]$ -енкефаліну).

Експериментальні навички та можливості автора можна гарно побачити, коли аналізувати опис синтезу бажаної координаційної сполуки. Так, під час синтезу комплексної частки з похідним біпіридину цікавим виявився факт утворення триядерного комплексу ренію, який, на жаль, не можна було використати в подальшому, оскільки карбоксильні групи органічного ліганду були задіяними в утворенні координаційних зв'язків з ренієм. Тому автором був запропонований ще один шлях синтезу цільової сполуки з використанням інших вихідних речовин, який і привів до отримання бажаного комплексу.

Автором надзвичайно детально (на мою думку, надто детально!) описаний підхід до твердофазного синтезу пептидів, за допомогою якого йому вдалося показати факт приєднання вищезгаданої комплексної частки з похідним біпіридину через карбоксильну групу. Цей синтез не є простим і його здійснення додатково свідчить про гарні здібності здобувача як синтетика. В цілому ж проведення таких досліджень є надзвичайно цікавим і результати таких досліджень можуть мати велике практичне значення. Варіюючи довжину та склад пептидів у таких біокон'югатах можна здійснювати селективну доставку маркера або терапевтичного агента до цілі.

Загалом, проведені дослідження, які були виконані дуже детально та

методологічно вірно, дозволили авторів зробити ряд цікавих висновків та узагальнень. Однак це було б неможливим без використання сучасних фізико-хімічних методів дослідження, таких як рентгеноструктурний аналіз, ЯМР-спектроскопія, мас-спектрометрія та ін. Підхід та цілеспрямоване використання великої кількості експериментальних досліджень сучасними методами забезпечило високу **достовірність** наукових результатів дисертаційної роботи.

На основі одержаних результатів автором зроблено висновки, які дозволяють прогнозувати будову та деякі властивості координаційних сполук, що утворюються за участю частки  $fac-Re(CO)_3^+$  та амінокислот, азотистих основ і заміщених 1,2,4-триазолів. Проведені дослідження є оригінальними, являються вагомим науковим внеском в розвиток фундаментальних досліджень проблем координаційної хімії і з успіхом можуть використовуватись у лекційних курсах та практикумах для студентів хімічних спеціальностей. Здобувачем виділено в індивідуальному стані 17 нових комплексів на основі карбонілів ренію(I) та встановлено їх будову. Вперше синтезовано трикарбонільні комплекси ренію(I) з 9-метиладеніном, рядом протеїногенних амінокислот та з похідними 1,2,4-триазолу. Розроблено підходи для селективного приєднання пептиду до комплексу ренію(I) з карбоксилвмісним біпіридином. Важливо зазначити, що отримані результати є гарним продовженням робіт у напрямку пошуку нових біомаркерів, а приєднання таких біомаркерів до біологічно важливих сполук (пептидів) відкриває подальші можливості цілеспрямованого введення маркерів у потрібні тканини/клітини організму. Таким чином, **наукова новизна та практична значимість** роботи, що рецензується, не викликають сумніву.

Основні результати роботи опубліковано у 6 статтях у фахових вітчизняних та зарубіжних видань та тезах 4 доповідей, які повністю відображають основний зміст дисертації. Роботу апробовано на авторитетних вітчизняних наукових конференціях. Зміст автореферату повністю відповідає змісту дисертації.

При ознайомленні з дисертаційною роботою виникли наступні побажання, питання та зауваження:

1. Координація аміногрупи аденіну іонами металів не є поширеним фактом. Часто такий контакт здійснюється непрямо за рахунок молекул води. Чи є

якісь додаткові факти, що вказують на таку координацію аденіну? На жаль, автор не вказує величини зсувів коливань у ІЧ спектрах та хімічних зсувів у ПМР спектрах (с.52-53), що допомогло б краще сприймати та аналізувати хід думок автора. Окрім того, які є підстави стверджувати, що сигнал при 7,86 м.ч. відноситься до координованої молекули води, якщо сам автор стверджує, що вода в комплексній частці є дуже лабільною і легко заміщується (с.68), а ПМР спектр записаний у ДМСО? Аналізуючи частоти коливань у ІЧ спектрах автор знаходить в області 3200-3400  $\text{cm}^{-1}$  ОН-коливання внутрішньо- та зовнішньосферних молекул води і не помічає валентні коливання аміногрупи аденіну (с.54), які також могли б бути використані для встановлення способу координації основи.

2. Не зрозуміло, чому не було використано в дослідженнях хоча б найпростіший дипепид (гліцин-гліцин), якщо однією з задач дослідження було встановити можливість ефективної взаємодії ренієвих комплексів з пептидами?
3. Чому більшість реакцій проводили у водно-метанольному розчині, коли усі компоненти реакції розчинні у воді?
4. Не зрозуміло, навіщо у багатьох випадках після промивання осаду водою він промивався ще і гексаном, коли гексан не змішується з водою (с.70 і ін.)?
5. Амідні (у відсутності депротонування) координуються металами зазвичай через амідний оксиген. Які вагомі підстави були у автора для твердження, що аспарагін координується ренієм через амідний азот (с.73,77)?
6. Дисертація читається не дуже легко. У тексті є ряд помилок, невдалих фраз (ядерно магнітний резонанс (с.14), ракові клітини супроводжуються збільшенням кількості рецепторів (с.36), кип'ятили кип'ятили під зворотнім холодильником (с.41)). Сторінки, що наведені у змісті не відповідають сторінкам у тілі дисертації (розд.4.2.2 у змісті починається на 103й стор., а насправді на 106й; розд.4.1 у змісті починається на 78й стор., а насправді на 80й). Зображене на схемі 4.2 (с.101) не відповідає підпису і тексту дисертації (с.100). Нумерація додатків у змісті не відповідає нумерації додатків у дисертації.

Перелічені зауваження жодним чином не знижують загальне позитивне враження про проведену здобувачем наукове дослідження. Робота виконана на високому, експериментальному та теоретичному рівні, що свідчить про відповідну професійну кваліфікацію автора. Дисертація гарно оформлена, в цілому чітко та грамотно написана. Автореферат адекватно відображає зміст дисертації, містить усі необхідні пункти стислого опису дисертації. Загальна характеристика роботи, висновки в дисертації та авторефераті тотожні.

На основі викладеного вище вважаю, що кваліфікаційна робота Пілецької Ксенії Олександрівни «Координаційні сполуки  $Re(I)$  з 9-метиладеніном, амінокислотами та похідними 1,2,4-триазолу» за актуальністю обраної теми, обсягом експериментального матеріалу, науковою новизною, обґрунтованістю висновків і рекомендацій відповідає вимогам п.п. 9, 11, 12, 13 до кандидатських дисертацій "Порядку присудження наукових ступенів", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з постановами КМУ № 656 від 19.08.2015 р та № 1159 від 30.12.2015 р.), а її автор, Пілецька Ксенія Олександрівна, заслуговує присудження їй наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.01 – неорганічна хімія.

Офіційний опонент

професор кафедри неорганічної хімії

хімічного факультету Київського національного

університету імені Тараса Шевченка,

доктор хімічних наук, професор



Р.Д.Лампека

Підпис засвідчую  
Вчений секретар НДЧ  
КАРАУЛЬНА Н.В.  
д.д. 06. 2017р.


