

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту
органічної хімії НАН України
член-кор. НАН України
М.В.Вовк М.В.Вовк
(підпис)
М.П.

АНОТОВАНИЙ ЗВІТ
про виконану роботу у 2021 році в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок
Дизайн, синтез і активність похідних каліксаренів як інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз та інших ензимів

Назва конкурсу: Підтримка досліджень провідних та молодих учених

Реєстраційний номер Проєкту: 106/02/0031

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проєкту) 2020.02/0031, Дизайн, синтез і активність похідних каліксаренів як інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз та інших ензимів

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу «Підтримка досліджень провідних та молодих учених» (назва конкурсу) протокол від 16-17 вересня 2020 року № 21

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Загальна тривалість виконання проєкту 2020 рік – 2022 рік

Тривалість виконання Проєкту у 2021 році

Початок – 30 квітня 2021 року
(дата укладання Договору про виконання наукового дослідження і розробки)

Закінчення – 15 грудня 2021 року

Загальна вартість Проєкту, грн. 4716112.00

Вартість Проєкту по роках, грн.:

1-й рік 816 512.00

2-й рік 1899600.00

3-й рік 2000000.00

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проєкту залучено 8 виконавців, з них:

доктори наук 2;

кандидати наук 3;

інші працівники 3.

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(Ї) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЄКТУ

ГРАНТООТРИМУВАЧ

Найменування підприємства/установи/організації (укр.)
Інститут органічної хімії Національної академії наук України

Організаційно-правова форма підприємства/установи/організації
Державна організація (установа, заклад, підприємство)

Підпорядкованість підприємства/установи/організації (укр.)
Національна академія наук України

Код ЄДРПОУ
05417325

Код(и) КВЕД
2010: 62.02

Стратегічні напрями наукової діяльності (укр.)
Органічна хімія, хімія барвників, механізми органічних реакцій, хімія гетероциклічних сполук, хімія фосфор-, фтор-, та сіркоорганічних сполук, хімії біологічно активних сполук, супрамолекулярна хімія.

ПІБ керівника підприємства/установи/організації (укр.)
Вовк Михайло Володимирович

Юридична адреса підприємства/установи/організації (укр.)
02660, вул. Мурманська,5, Київ-94, Україна
Фактична адреса (укр.)

02660, вул. Мурманська,5, Київ-94, Україна
Поштова адреса (укр.)

02660, вул. Мурманська,5, Київ-94, Україна

Телефон
380-44-292 71 50

Посилання на веб сторінку підприємства/установи/організації
www.ioch.kiev.ua

СУБВИКОНАВЕЦЬ

Найменування підприємства/установи/організації (укр.)
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря Національної академії наук України

Організаційно-правова форма підприємства/установи/організації
Державна організація (установа, заклад, підприємство)

Підпорядкованість підприємства/установи/організації (укр.)
Національна академія наук України

Код ЄДРПОУ
03563790

Код(и) КВЕД
85.42 72.19

Стратегічні напрями наукової діяльності (укр.)

– синтез потенційно біоактивних сполук і дослідження зв'язку між структурою і активністю; – хімічні моделі біологічних процесів, синтез і вивчення біологічних властивостей нових біорегуляторів для застосування в медицині і в сільському господарстві; – розробка наукових основ синтезу і технології одержання практично важливих продуктів і матеріалів з вуглеводневої сировини.

ПІБ керівника підприємства/установи/організації (укр.)
Вовк Андрій Іванович

Юридична адреса підприємства/установи/організації (укр.)
вул. Мурманська, 1, Київ-94, 02094, Україна

Фактична адреса (укр.)
вул. Мурманська, 1, Київ-94, 02094, Україна

Поштова адреса (укр.)
вул. Мурманська, 1, Київ-94, 02094, Україна

Телефон
(+380-44) 558-53-88

Посилання на веб сторінку підприємства/установи/організації
<https://bpci.kiev.ua>

4. ОПИС ПРОЄКТУ

4.1. Мета Проекту

Загальна мета проекту є дизайн, синтез і вивчення біоактивних похідних каліксаренів як інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз та інших ензимів. Метою робіт за 2021 рік було:

1. Розробка синтетичних підходів та синтез нових каліксаренфосфорних, тіакаліксаренфосфорних, каліксаренфосфонових і каліксаренфосфінових кислот встановлення їх будови у розчинах та кристалічному стані, комп'ютерне моделювання активності та встановлення *in vitro* закономірностей інгібування протеїнтирозинфосфатаз і глутатіон S-трансфераз, створення нових біоактивних речовин.

2. Розробка синтетичних підходів і вивчення властивостей амфіфільних каліксаренів катіонної та аніонної природи, структурно орієнтованих на локалізацію в мембранних структурах і взаємодію з трансмембранними (рецепторними) РТРазами та іншими ензимами, оцінка впливу синтезованих сполук на рецепторні і нерекцепторні (цитозольні) РТРази.

Проект є міждисциплінарним та спрямований на отримання нових фундаментальних знань, які визначатимуть підходи до розробки ефективних та селективних інгібіторів ферментів на основі каліксаренів.

4.2. Основні завдання Проєкту

Синтез каліксарен-фосфорних, каліксаренфосфонових і каліксаренфосфінових кислот, ідентифікація можливих мішеней серед терапевтично важливих фосфатаз, глутатіон-S-трансфераз та інших ензимів на основі комп'ютер-ного моделювання, оцінка активностей *in vitro* та встановлення зв'язку між структурою інгібіторів та їх активністю. Синтез нових амфільних діалкіламідосульфонілкаліксаренфосфорних кислот, алкоксикаліксаренфосфонових кислот, тетраалкіламонієвих похідних алкоксикаліксаренів, встановлення їх будови, комп'ютерне моделювання активності та встановлення *in vitro* закономірностей інгібування протеїнтирозинфосфатаз і глутатіон S-трансфераз, створення нових біоактивних речовин.

4.3. Детальний зміст Проєкту:

- Впродовж останніх років похідні калікс[4]аренів різної структури досліджувались як потенційно біоактивні сполуки із противірусною, протибактеріальною, антитромботичною, протираковою активністю та іншим впливом. З накопиченням великого масиву наукових даних ці сполуки стали розглядатися як універсальні скафолди для дизайну ліків.

Дослідження, які стосуються властивостей похідних калікс[4]аренів як інгібіторів ензимів, представлені відносно невеликою кількістю публікацій. Раніше нами вперше було показано, що фосфонові кислоти на молекулярній платформі калікс[4]аренів інгібують лужні фосфатази, бактеріальну протеїнтирозинфосфатазу з Єрсинії і людські протеїнтирозинфосфатази. Інтерес до подібних досліджень спричинений властивостями РТРаз як одних із ключових регуляторів сигнальних процесів в живих клітинах і перспективних терапевтичних мішеней для розробки нових лікарських препаратів для лікування діабету 2 типу, раку та багатьох інших хвороб.

Дослідження макроциклічних сполук як інгібіторів ферментів має значну перспективу. Завдяки своїй гідрофобності каліксарени можуть проникати через плазматичну мембрану і переносити інші біоактивні речовини. Молекулярна платформа каліксаренів та тіакаліксаренів не проявляє токсичної дії. Каліксарени швидко виводяться з організму, не накопичуючись у внутрішніх органах. Каліксарени (якщо вони не є кон'югованими з протеїнами) не викликають імунних реакцій організму. Завдяки своїй чашоподібній хімічній будові та багатоцентровості, ці сполуки мають практично безмежні можливості для хімічної модифікації шляхом введення різноманітних за своєю природою замісників.

Даний етап проєкту ставить за мету синтез нових каліксаренфосфорних, каліксаренфосфонових, каліксаренфосфінових кислот а також амфільних діалкіламідосульфонілкаліксаренфосфорних кислот, алкоксикаліксаренфосфонових кислот, тетраалкіламонієвих похідних алкоксикаліксаренів, встановлення їх будови, комп'ютерне

моделювання активності та встановлення *in vitro* закономірностей інгібування протеїнтирозинфосфатаз і глутатіон S-трансфераз, створення нових біоактивних речовин.

Новизна проекту полягає в отриманні нових фундаментальних знань на межі органічної, біоорганічної, фосфороорганічної і супрамолекулярної хімії та біохімії. Проект базується на авторській ідеї, яка полягає у застосуванні макроциклічного скафолду для конструювання інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз. Такий скафолд співмірний з об'ємним заглибленням в активному центрі ензимів, розрахованих на протеїновий субстрат. Очевидно, що функціоналізовані каліксарени можуть забезпечити супрамолекулярні взаємодії із залученням більшої кількості амінокислотних залишків ензиму. Тому проект поєднує нові підходи щодо синтезу потенційних інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз та нові ідеї щодо моделювання їх активності *in silico* та *in vitro*.

Об'єктом поточного етапу науково-дослідної роботи є нові тривимірні чашоподібні амфіфільні алкоксикаліксарени та діалкіламідосульфонілкаліксарени, котрі містять аніонні або катіонні угруповання: фосфатні, фосфонатні, тетраалкіаммонійні залишки. Такі сполуки здатні утворювати міцелоподібні асоціати у водних розчинах, проходити через біологічні мембрани, інгібувати терапевтично важливі ензими та слугувати лігандами інших білкових молекул.

Предмет дослідження – синтез та інгібувальна активність амфіфільних каліксаренів катіонної та аніонної природи, функціоналізованих біофорними фосфатними, фосфонатними, тетраалкіаммонійними угрупованнями щодо протеїнтирозинфосфатаз і глутатіон S-трансфераз та інших терапевтично значимих ензимів. Методи дослідження – хімічна і ферментативна кінетика, молекулярний докінг, молекулярна динаміка.

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в поточному році/ в рамках реалізації Проекту, зокрема:

Розроблені методи синтезу каліксаренфосфорних, тіакаліксаренфосфорних, каліксаренфосфонових і каліксаренфосфінових кислот, встановлена їх будова у розчинах та кристалічному стані. Методами ядерного магнітного резонансу, рентгеноструктурного аналізу та молекулярного моделювання показано, що алкілові естери та вільні каліксаренфосфорні, тіакаліксаренфосфорні, каліксаренфосфонові і каліксаренфосфінові кислот існують в конформації *сплющений конус* з *син*-орієнтованими фенольними фрагментами відносно головної площини макроциклу. Кути нахилу фенольних кілець по відношенню до головної площини макроциклу, залежать як від типу замісників на верхньому вінці макроциклу (H, t-Bu) так і від природи замісників біля атому фосфору (OH, OEt).

Синтезовано амфіфільні каліксарени з гідрофобними алкільними групами C8-C16 на нижньому вінці макроциклу та гідрофільними біофорними групами аніонного та катіонного типу на верхньому вінці. Як прекурсори для отримання амфіфільних каліксаренів були синтезовані відповідні конусоподібні діалкокси- та тетраалкоксикаліксарени модифіковані по верхньому

вінцю макроциклу реакційноздатними хлорометильними та формільними групами. Реакцією тетракіс-хлорометилтетраалкоксикаліксаєнів з триалкіламінами були синтезовані каліксаєнаміфілі модифіковані по верхньому вінцю позитивно зарядженими тетраалкіламонієвими групами. Каліксаєнаміфілі з замісниками аніонної природи на верхньому вінці макроциклу були отримані наступними реакціями: окисненням алкоксикаліксаєн альдегідів до алкоксикаліксаєн карбонових кислот; фосфорилуванням алкоксихлорометилкаліксаєнів, алкоксикаліксаєн альдегідів та алкоксикаліксаєн карбонових кислот до відповідних каліксаєн метилфосфонових, гідроксиметилфосфонових, метиленбісфосфонових, гідроксиметиленбісфосфонових та кетофосфонових кислот.

На основі комплексного дослідження фосфатних, фосфонатних і фосфінатних похідних калікс[4]аренів та тіакаліксаєнів охарактеризовано потенційно біоактивні сполуки, в тому числі інгібітори подвійної дії стосовно глутатіон-*S*-трансфераз і протеїнтирозинфосфатаз. Вперше встановлено інгібувальний вплив похідних калікс[4]арену і тіакалікс[4]арену, функціоналізованих по нижньому вінцю залишками фосфорної кислоти, на активність деяких протеїнтирозинфосфатаз та окремих ізоформ глутатіон-*S*-трансфераз.

Нові метиленбісфосфонатні і α -гідрокси-метиленбісфосфонатні похідні калікс[4]арену досліджено як інгібітори GST A1-1, GST P1-1. Аналіз залежності активності від структури функціоналізованих макроциклів вказує на важливість природи *O*-алкільного замісника на нижньому вінці макроциклічної платформи.

Встановлено вплив макроциклічних похідних фосфінових кислот на активність глутатіон-*S*-трансферази *in vitro*. Особливості селективності інгібування продемонстровано із використанням ізоформ GST A1-1, GST P1-1. На основі кінетичних закономірностей та молекулярного докінгу запропоновано можливі механізми та способи утворення ензим-інгібіторних комплексів.

Отримані результати є важливими для подальшого конструювання і дослідження інгібіторів подвійної дії стосовно глутатіон-*S*-трансфераз і протеїнтирозинфосфатаз як терапевтично важливих мішеней для подолання резистентності клітин до лікарських препаратів і лікування захворювань пов'язаних з підвищеною активністю цих ензимів.

Було встановлено інгібувальну здатність нових амфіфільних каліксаєнів щодо протеїнтирозинфосфатаз PTP1B, TC-PTP, MEG1, MEG2 і VE-PTP. На основі одержаних кінетичних даних та результатів комп'ютерного моделювання встановлено зв'язок між структурою і активністю амфіфільних аніонних інгібіторів *in vitro*, а також запропоновано можливі механізми інгібування.

5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проєкту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик)

5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами

5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проєкту для економіки та суспільства (стосується проєктів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)

5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проєкту в суспільній практиці.

Отримані фундаментальні результати можуть знайти практичне застосування для дизайну нових типів похідних каліксаренів, тіакаліксаренів, сульфокаліксаренів з метою їх дослідження та використання для створення фізіологічно-активних сполук та систем таргетної доставки лікарських засобів в біологічні мішені при терпії низки захворювань. Окремо слід відзначити перспективи отриманих результатів при подальших дослідженнях і конструюванні нових ефективних та селективних інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз як терапевтично важливих молекулярних мішеней при лікуванні діабету 2 типу, раку та інших захворювань.

Примітка: Анотований звіт не повинен містити відомостей, заборонених до відкритого опублікування

Науковий керівник Проєкту

Кальченко Віталій Іванович

Завідувач відділу хімії фосфоранів,

радник при дирекції Інституту органічної хімії НАН України

