

В результате проведенного исследования мы обнаружили, что *unLdh/Mdh* существенно отличается от всех ферментов как из семейства малатдегидрогеназ, так и лактатдегидрогеназ – различие составляет от 0,81 до 0,95. Наименьшее различие (0,81) с ферментом (2R)-3-сульфолактатдегидрогеназой (НАДФ+), наибольшее 0,95 с цитоплазматической малатдегидрогеназой. Таким образом, было подтверждено, что *unLdh/Mdh* не является геном, кодирующим ни МДГ1, ни другой известный фермент суперсемейства ЛДГ/МДГ. Это совершенно иной фермент из суперсемейства ЛДГ/МДГ, функция которого пока не изучена.

Далее с помощью компьютерного анализа планируется изучить, у каких организмов представлен ген *unLdh/Mdh*, какова его транскрипционная активность и попытаться предсказать функцию кодируемого им фермента.

Список литературы / References:

1. Dennis D. and Kaplan N.O. D and L-lactic acid dehydrogenase in *Lactobacillus plantarum*. *J. Biol. Chem.*, 1960, vol. 235, pp. 810-818.
2. Denger K., Cook A.M. Racemase activity effected by two dehydrogenases in sulfolactate degradation by *Chromohalobacter salexigens*: purification of (S)-sulfolactate dehydrogenase. *Microbiology (Reading, Engl.)*, 2010, vol. 156, pp. 967-974.
3. McReynolds M.S. and Kitto G.B. Purification and properties of *Drosophila* malate dehydrogenases. *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, vol. 198, pp. 165-175.
4. Yamaguchi M. Studies on regulatory functions of malic enzymes. IV. Effects of sulfhydryl group modification on the catalytic function of NAD-linked malic enzyme from *Escherichia coli*. *J. Biochem.*, 1979, vol. 86, pp. 325-333.
5. Saz, H.J. and Hubbard, J.A. The oxidative decarboxylation of malate by *Ascoris lumbricoides*. *J. Biol. Chem.*, 1957, vol. 225, pp. 921-933.
6. Walker D.A. Physiological studies on acid metabolism. Malic enzyme from *Kalanchoë crenata*: effects of carbon dioxide concentration. *Biochem. J.*, 1960, vol. 74, pp. 216-223.
7. Connelly, J.L., Danner, D.J. and Bowden, J.A. Branched chain α -keto acid metabolism. I. Isolation, purification, and partial characterization of bovine liver α -ketoisocaproic: α -keto- β -methylvaleric acid dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, 1968, vol. 243, pp. 1198-1203.
8. Stern J.R. and O'Brien R.W. Oxidation D-malic and β -alkylmalic acids wild-type and mutant strains of *Salmonella typhimurium* and by *Aerobacter aerogenes*. *J. Bacteriol.*, 1969, vol. 98, pp. 147-151.
9. Calvo, J.M., Stevens, C.M., Kalyanpur, M.G. and Umbarger, H.E. The absolute configuration of alpha-hydroxy-beta-carboxyisocaproic acid (3-isopropylmalic acid), an intermediate in leucine biosynthesis. *Biochemistry*, 1964, vol. 3, pp. 2024-2027.
10. Marchler-Bauer A et al. CDD/SPARCLE: functional classification of proteins via subfamily domain architectures. *Nucleic Acids Res.*, 2017, vol. 45(D), pp. 200-203.

ЯМР-АНАЛИЗ САМОАССОЦИИИ ТЕРДИЕНТИРОВАННЫХ ЦИКЛОМЕТАЛЛИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ Pt В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

Мосунов А.А.¹, Ельцов О.С.², Сулейманова А.Ф.³, Кожевников В.Н.³, Евстигнеев М.П.¹

¹Севастопольский государственный университет

ул. Университетская 33, г. Севастополь, 299053, РФ

e-mail: AAMosunov@sevsu.ru

max_evstigneev@mail.ru

²Уральский федеральный университет

ул. Мира 19, г. Екатеринбург, 620002, РФ

³Нортумбрийский университет

Ньюкасл-на-Тайне, NE1 8ST, ВБ

Аннотация. Одной из ключевых особенностей плоских комплексов Pt (II) является их способность к самоагрегированию. Это явление обусловлено множеством межмолекулярных сил, в том числе основанных на взаимодействии с лигандами, а также металлофильными взаимодействиями Pt-Pt. Самоагрегирование широко использовалось для создания множества супрамолекулярных материалов. В поисках новых материалов, пригодных для самосборки, желательно получить информацию о силе межмолекулярных взаимодействий в комплексе. Исследование методом ЯМР титрования - это хорошо известный метод исследования таких взаимодействий, обеспечивающий информацию о величине связи в агрегатах комплексов Pt (II). В работе рассмотрено изучение процессов самоассоциации нейтральных циклометаллических комплексов в растворе. Проведено сравнение результатов ЯМР-исследования и вычислительного эксперимента. Для некоторых комплексов платины Pt (II) показано существование в растворе в виде агрегатов.

Ключевые слова: ЯМР-спектроскопия, самоассоциация, стэкинг-взаимодействие.

SELF-ORGANISATION OF TERDENTATE CYCLOMETALLATED Pt COMPLEXES IN SOLUTION AND SOLID STATE

Mosunov A.A.¹, Eltsov O.S.², Suleymanova A.F.³, Kozhevnikov V.N.³, Evstigneev M.P.¹

¹Sevastopol State University
Universitetskaya str., 33, Sevastopol, 299053, Russia

e-mail: AAMosunov@sevsu.ru

max_evstigneev@mail.ru

²Ural Federal University,
Mira str., 19, Ekaterinburg, 620002, Russia

³Northumbria University
Newcastle-Upon-Tyne NE1 8ST, UK

Abstract. One of the key feature of square planar Pt (II) complexes is their ability to self-aggregate. This phenomenon is driven by a variety of intermolecular forces including ligand-based as well as metallophilic Pt-Pt interactions. Self-aggregation was exploited extensively to access a variety of supramolecular materials. In search for new self-associating materials it is desirable to be able to gain information about the strength of intermolecular interactions between molecules. NMR dilution study is a well-established method to explore such interactions providing information on the magnitude of the bonding within the aggregates of Pt (II) complexes. Here we report on the self-association process of neutral cyclometallated complexes in solution combining this technique (NMR-investigation) with computational methods. For some of the Pt (II) complexes, the behaviour in solution is faced with the self-organization into liquid crystalline phases observed in the bulk.

Key words: NMR-spectroscopy, self-association, staking-aggregation.

В поисках нового жидкокристаллического материала необходимо иметь информацию о силе межмолекулярных взаимодействий исходных молекул. ЯМР-спектроскопия - хорошо известная методика исследования таких взаимодействий. В типичном эксперименте проводят сравнение ЯМР-спектров раствора с различными концентрациями исследуемого вещества, и по изменению химических сдвигов оценивают интенсивность связи в комплексах Pt (II) [1-5].

Для исследования была подготовлена серия производных SAF, изображенных на рисунке 1. Комплексы включают 3,4,5-три (децилокси) бензойный остаток в качестве мезогенной единицы для повышения кристалличности жидкости.

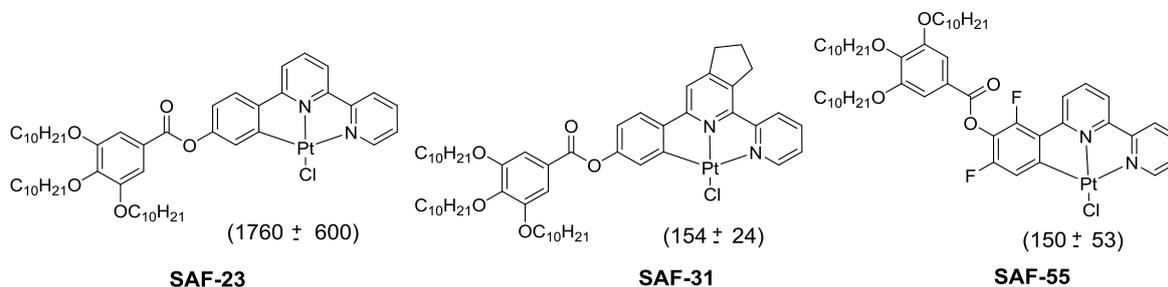


Рисунок 1 – Структуры комплексов и значение константы димеризации в растворе CDCl₃ (в скобках)

На рисунке 2 показаны ЯМР-спектры одного из исследуемых соединений при различных концентрациях. Видно, что ароматические протоны (которые представляют собой необменивающиеся атомы водорода, непосредственно связанные с жестким ароматическим хромофором и отмеченные буквами на рисунке 2), испытывают сдвиг в область более высоких частот при повышении концентрации, тогда как сигналы алифатических протонов мало зависят от изменения концентрации. Такая закономерность типична для образования в растворе агрегатов по типу стэкинга ароматических хромофоров и ранее наблюдалась для широкого диапазона ароматических молекул [6], включая комплексы Pt (II) [7, 8]. Это объясняется эффектом кольцевого тока, индуцированного статическим магнитным полем ЯМР-спектрометра, в большей степени влияющего на ароматические протоны. Систематический сдвиг в область высоких частот ароматических протонов был отмечен для всего набора производных SAF, изученных в настоящей работе, поэтому можно сделать вывод, что все соединения объединяются в растворе в виде стопок объединенных π-стэкингом.

Принимая во внимание наблюдаемое смещение химсдвигов в область высокого поля как очевидный признак самоассоциации изученных соединений, эта особенность ароматических протонов далее использовалась для количественной оценки процесса агрегации.

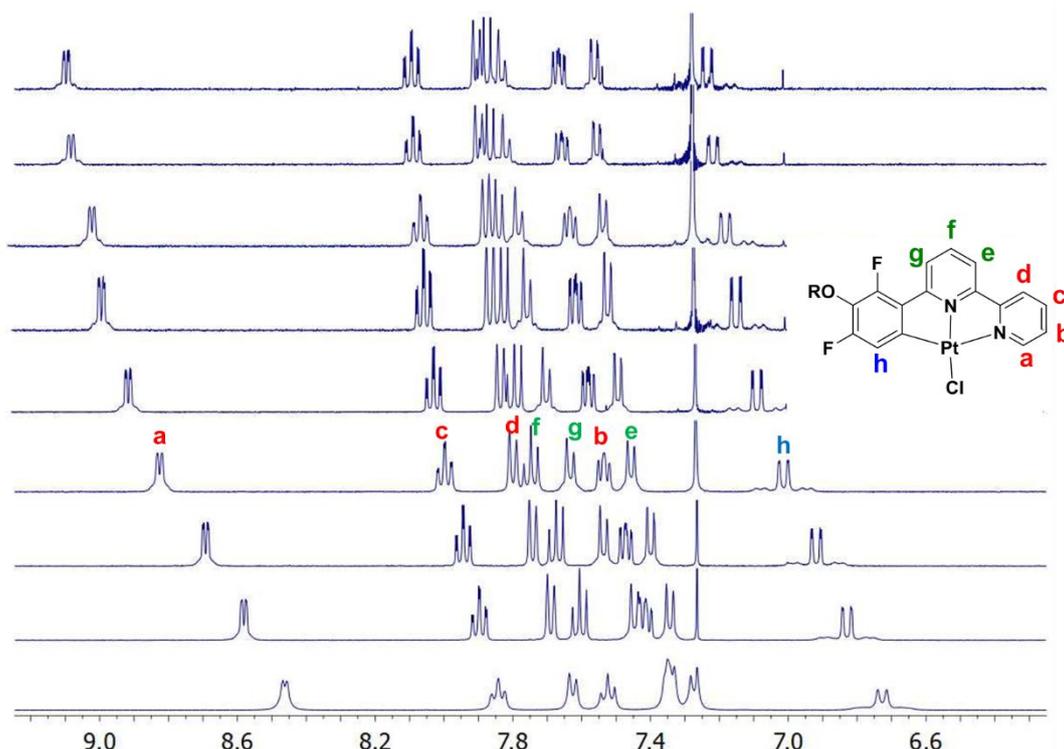


Рисунок 2 – ЯМР-спектры SAF-55 в диапазоне концентраций от $1,95 \cdot 10^{-4}$ (сверху) до $2,5 \cdot 10^{-2}$ М (снизу)

Результаты экспериментов по титрованию, проведенных для исследуемых соединений в CDCl_3 , показаны на рисунке 3 исключительно для ароматических протонов. Видно, что, несмотря на то, что используемый диапазон концентраций относительно широк, кривые титрования, тем не менее, не имеют насыщения (т.е. выравнивания асимптотической горизонтальной линии), что характерно для агрегации ограниченной димеризацией. Следовательно, образованием комплексов размерности большей, чем димер, нельзя пренебречь априори. В настоящей работе мы использовали две стандартные модели бесконечномерной агрегации, а именно: (ЕК-модель), предполагающая равное значение константы комплексообразования K на каждой стадии агрегации, и модель нуклеации, предполагающая, что димеризация происходит с $K_2 = \sigma K$, а все остальные стадии, идут с равным значением константы $K_i = K$. Результаты вычислений приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Расчетные параметры агрегации SAF-23, SAF-31, SAF-55 в CDCl_3

nucleus	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j
SAF-23										
δ_m , ppm	9.14	7.72	8.06	7.90	7.55	7.84	7.47	7.54	7.44	7.00
δ_d , ppm	8.79	7.52	7.94	7.80	7.46	7.70	7.23	7.31	7.20	6.86
$\Delta\delta$, ppm	0.35	0.20	0.12	0.10	0.09	0.14	0.24	0.23	0.24	0.14
$K = 865 \pm 435 \text{ M}^{-1} \sigma = 1.9 \pm 0.7$										
SAF-31										
δ_m , ppm	8.87	7.42	7.95	7.77			7.06	7.42	6.96	6.84
δ_d , ppm	8.48	7.16	7.72	7.50			6.76	7.16	6.82	6.70
$\Delta\delta$, ppm	0.39	0.26	0.23	0.27			0.30	0.26	0.14	0.14
$K = 127 \pm 45 \text{ M}^{-1} \sigma = 2.0 \pm 0.5$										
SAF-55										
δ_m , ppm	9.04	7.67	8.09	7.91	7.60	7.89	7.78	7.36		
δ_d , ppm	8.76	7.54	7.98	7.80	7.49	7.73	7.51	7.03		
$\Delta\delta$, ppm	0.28	0.13	0.11	0.11	0.11	0.16	0.27	0.33		
$K = 250 \pm 170 \text{ M}^{-1} \sigma = 0.9 \pm 0.4$										

Параметры δ_m , δ_d , $\Delta\delta = \delta_m - \delta_d$, K выводятся из ЕК-модели; параметр σ получен из модели нуклеации.

Видно, что все ароматические протоны всех изученных соединений испытывают индуцированное экранирование в димере $\Delta\delta$, равное в среднем 0,2 ppm. Это значение хорошо соответствует типичным значениям экранирования в ЯМР-эксперименте, которые наблюдались ранее при агрегации ароматических

соединений в виде π -стэкинга [6], включая агрегацию ароматических Pt (II) -комплексов в хлороформе, которая описана в работе [8]. Распределение $\Delta\delta$ по ароматическим протонам довольно схоже для всех трех изученных соединений, что указывает на сходство структур агрегатов, образующихся в растворе.

Вычисленные значения K в таблице могут быть сравнимы с верхним диапазоном типичных значений констант агрегации в хлороформе $\sim 1 \dots 100 \text{ M}^{-1}$ [8, 9] и определяют интенсивность агрегации. В хлороформе агрегация в основном обусловлена ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями между ароматическими остатками в агрегатах, однако важный вклад в стабилизацию агрегатов также дает взаимодействие металлофильных взаимодействий Pt-Pt и электростатических взаимодействий галогенированных ароматических хромофоров [8, 10, 11]. Как следует из таблицы 1, наибольшая способность к агрегации демонстрируется веществом SAF-23, тогда как SAF-31 и SAF-55 имеют более низкую, но довольно сходную друг с другом константу самоассоциации. Принимая во внимание почти идентичные химические структуры хромофоров изученных соединений, наиболее вероятно наблюдаемая дисперсия констант равновесия обусловлена незначительными различиями ориентации их молекул в комплексах, зависящей от боковых цепей и ранее описанной для агрегации различных ароматических молекул (см., например, [9]). В частности, непланарное циклопентановое кольцо в структуре SAF-31, по-видимому, создает пространственные препятствия для энергетически оптимального расположения молекул SAF-31 в стэкинг-структуре, что объясняет снижение K для этого соединения по сравнению с SAF-23. Влияние боковых цепей также влияет на вариации параметра кооперативности σ (см. табл. 1). Вычисленное значение $\sigma \approx 2$ для SAF-23 и SAF-31 свидетельствует о стерических препятствиях к образованию более крупных, чем димеры агрегатов, созданных боковой цепью бензола. Вычисленное значение $\sigma \approx 1$ для SAF-55 в тоже время указывает на плотную упаковку агрегатов его молекул.

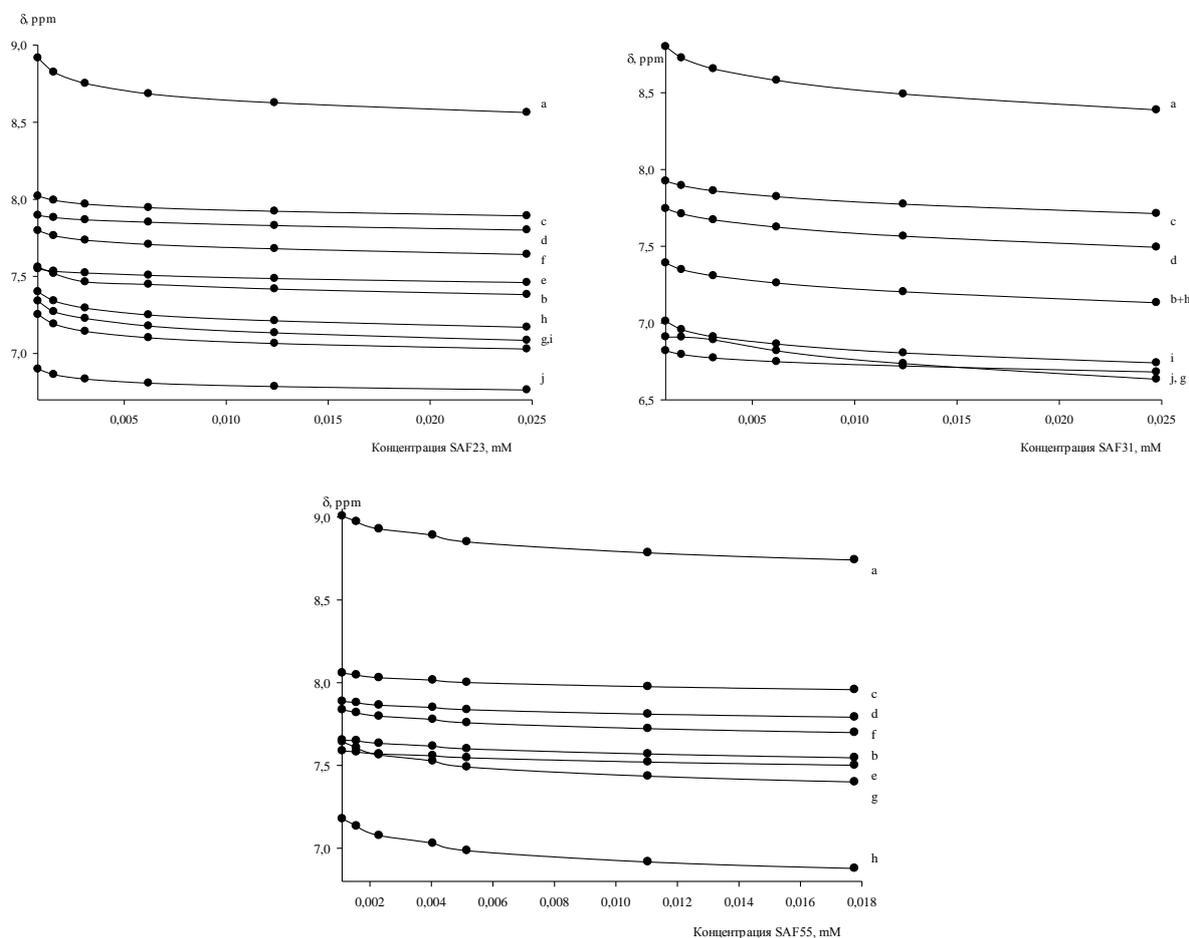


Рисунок 3 – Экспериментальные зависимости химических сдвигов ^1H -ЯМР ароматических протонов SAF-23, SAF-31, SAF-55 от концентрации в CDCl_3

Полученный результат согласуется с данными других методик, полученных для исследуемых соединений, что указывает на некоторое сходство в общих закономерностях агрегации SAF в растворе и твердых фазах.

Список литературы / References:

1. Kotze I.A., Gerber W.J., Wu Y.-S., Koch, K.R. Cation-[small pi] induced aggregation of water-soluble [PtII(diimine)(Ln-S,O)]⁺ complexes studied by 1H DOSY NMR and TEM: from 'dimer aggregates' in acetonitrile to nano-aggregates ('metallo gels') in water. *Dalton Trans.*, 2013, vol. 42, p. 3791.
2. Arena G., Scolaro L.M., Pasternack R.F., Romeo R. Synthesis, Characterization, and Interaction with DNA of the Novel Metallointercalator Cationic Complex (2,2':6',2''-terpyridine)methylplatinum(II). *Inorganic Chemistry*, 1995, vol. 34, iss. 11, p. 2994.
3. Koch K., Sacht C., Lawrence C. Self-association of new mixed-ligand diimine-N-acyl-N[prime or minute],N[prime or minute]-dialkyl thioureate complexes of platinum(II) in acetonitrile solution [dagger]. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, 1998, p. 689, DOI:10.1039/A704577H 10.1039/A704577H(4).
4. Sivchik V.V., Grachova E.V., Melnikov A.S., Smirnov S.N., Ivanov A.Y., Hirva P., Tunik S.P., Koshevoy I.O. Solid-State and Solution Metallophilic Aggregation of a Cationic [Pt(NCN)L]⁺ Cyclometalated Complex. *Inorg. Chem.*, 2016, vol. 55, p. 3351.
5. Pawlak T., Pazderski L., Sitkowski J., Kozerski, L., Szlyk E. 1H, 13C, 195Pt and 15N NMR structural correlations in Pd(II) and Pt(II) chloride complexes with various alkyl and aryl derivatives of 2,2'-bipyridine and 1,10-phenanthroline. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 2011, vol. 49, iss. 2, p. 59.
6. Evstigneev M.P. Hetero-association of aromatic molecules in aqueous solution. *Int. Rev. Phys. Chem.*, 2014, vol. 33, p. 229.
7. Yajima T., Maccarrone G., Takani M., Contino A., Arena G., Takamido R., Yamauchi O. Combined Effects of Electrostatic and π - π Stacking Interactions: Selective Binding of Nucleotides and Aromatic Carboxylates by Platinum(II)-Aromatic Ligand Complexes. *Chem. Eur. J.*, 2003, vol. 9, p. 3341.
8. Suleymanova A.F., Eltsov O.S., Kozhevnikov D.N., Lantushenko A.O., Evstigneev M.P., Kozhevnikov V.N. Measuring Self-Association of Pt Complexes by ¹⁹⁵Pt NMR. *ChemistrySelect*, 2017, vol. 2, p. 3353.
9. Sun H., Zhao Y., Huang Z., Wang Y., Li F. ¹H NMR Study on the Self-Association of Quinacridone Derivatives in Solution. *J. Phys. Chem. A*, 2008, vol. 112, p. 11382.
10. Mayerhöffer U., Würhner F. Halogen-Arene Interactions Assist in Self-Assembly of Dyes. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, vol. 51, p. 5615.
11. Sivchik V.V., Grachova E.V., Melnikov A.S., Smirnov S.N., Ivanov A.Y., Hirva P., Tunik S.P., Koshevoy I.O. Solid-State and Solution Metallophilic Aggregation of a Cationic [Pt (NCN) L]⁺ Cyclometalated Complex. *Inorg. Chem.*, 2016, vol. 55, p. 3351.

ДЕТЕКТИРОВАНИЕ ВОДОРОДНОЙ СВЯЗИ В КОМПЛЕКСАХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДОМ РАМАН-СПЕКТРОСКОПИИЕлецкая А. А.¹, Мосунов А.А.¹, Бондаренко А.В.²¹Севастопольский государственный университет

ул. Университетская 33, г. Севастополь, 299053, РФ

e-mail: AAMosunov@sevsu.ru

²Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники

ул. П. Бровки, 6, г. Минск, 220013, Республика Беларусь

Аннотация. В работе рассмотрен один из важных аспектов в исследовании межмолекулярных взаимодействий ароматических биологически активных соединений. Решение данной задачи является важным этапом в синтезе новых веществ, а также изучении процессов их комплексообразования. Существует большое количество физико-химических факторов, служащих стабилизации подобных комплексов. Водородные связи – один из возможных источников такой стабилизации. Экспериментально доказать наличие Н-связи в комплексе является нетривиальной задачей. Считается, что одним из таких способов является получение раман-сигнала от веществ и их комплексов с последующим анализом спектрограмм. Для получения качественного сигнала от раствора с невысокой концентрацией вещества были использованы SERS-подложки. Тестирование данной методики на оборудовании лаборатории Молекулярной и клеточной биофизики Центра коллективного пользования СевГУ представлено в данной работе.

Ключевые слова: биологически активные вещества, самоассоциация, раман-спектроскопия, SERS-подложки.