

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Приходька Андрія Олександровича** «Пошук нових інгібіторів протеїнкінази СК2 серед похідних 4Н-4-хроменону», представлена на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія

Актуальність выбраної теми:

Серед відомих молекулярних мішеней протеїнкіназа СК2 займає особливе місце, так вона приймає участь в регуляції таких життєво важливих процесів, як транскрипція, трансляція, проліферація та апоптоз. Цей ензим бере участь у різних процесах, пов’язаних з патологіями. Зокрема, аномально високий рівень експресії СК2 характерний для ряду ракових захворювань. СК2 також задіяна при розвитку хвороби Альцгеймера, аутоімунних захворюваннях, гіпертрофії серця та діабету. Саме тому розробка нових інгібіторів протеїнкінази СК2 є актуальною проблемою в сучасній біоорганічній хімії. За останні роки було знайдено низку інгібіторів протеїнкінази СК2 і один з них вже знаходиться на етапі клінічних випробувань як перспективний протираковий препарат, але, на жаль, досі не був впроваджений у клінічну практику. Таким чином, створення нових високоефективних специфічних інгібіторів СК2 є актуальним та важливим завдання і дисертаційна робота Приходька А. О. відповідає цим критеріям актуальності та наукової новизни.

Дослідження проводилось у відповідності до плану науково-дослідних робіт відділу біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України: «Вивчення протеїнкіназ як молекулярних мішеней для розробки терапевтичних засобів методами комбінаторної хімії та комп’ютерного моделювання» (номер держ. реєстрації – 0107U003345, 2008–2012 pp.), «Раціональний дизайн інгібіторів протеїнкіназ як попередників лікарських засобів» (номер держ. реєстрації 0112U004110, 2013–2017 pp.), конкурсної тематики «Оптимізація інгібіторів протеїнкінази СК2 та дослідження їхньої біологічної активності на культурах ракових клітин» (номер держ. реєстрації 0107U004939, 2007–2009 pp.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Аналіз матеріалів дисертації в цілому показує, що всі розділи досліджень виконані на високому науковому рівні з використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу. Будова всіх синтезованих сполук доведена спектральними даними (ЯМР ^1H), хромато-мас-спектрометрією, елементним аналізом та тонкошаровою хроматографією на силікагелі. Сукупність хімічних перетворень, спектральних характеристик та хроматографічних даних переконливо підтверджує будову, чистоту та індивідуальність синтезованих сполук. Біохімічне тестування отриманих сполук проведено з використанням загальноприйнятих методик, одержані результати можна вважати надійними.

Усі наукові положення і висновки, сформульовані в дисертації базуються на експериментальних дослідженнях і логічно витікають з отриманих результатів. Слід відмітити, що зміст наукових робіт і автореферат повністю відповідають змісту дисертаційної роботи.

Загальні висновки до дисертації викладено чітко, коректно, стисло і науково обґрунтовано. Вважаю, що достовірність результатів і висновків не викликає сумніву.

Новизна дисертаційних досліджень.

Наукова новизна полягає в відкритті нових інгібіторів протеїнкінази серед похідних 4Н-4-хроменону. У процесі виконання дисертаційної роботи автором власноручно виконано органічний синтез близько 300 органічних сполук, відібраних методом молекулярного докінгу. Розроблено методики синтезу нових 7-(3-діалкіламіно-2-гідроксипропокси)-3-арилоксихромонів.

Встановлено залежність інгібувальної активності щодо протеїнкінази СК2 синтезованих сполук від хімічної структури їх замісників.

Синтезовано 47 інгібіторів СК2, значення IC_{50} яких було в межах від 4 до 800 нМ, для шістьох з яких встановлено селективність інгібування щодо СК2 в порівнянні з іншими кіназами (ASK1, JNK3, Aurora A, ROCK1, FGFR1, Met, Tie2).

Знайдено новий клас низькомолекулярних інгібіторів протеїнкінази СК2 – тетрагалогенофталіміди – та досліджено механізми їх взаємодії з ензимом.

Практична цінність одержаних результатів.

У результаті виконання дисертаційної роботи було синтезовано більше 40 нових високоефективних наномолярних інгібіторів протеїнкінази СК2 серед похідних 4Н-4-хроменону та тетрагалогенофталіміду. Синтезовані інгібітори СК2 є зручним інструментом для вивчення структури й особливостей функціонування СК2 у наукових дослідженнях та їх можна розглядати як потенційні попередники лікарських препаратів, які при подальшій оптимізації можуть бути використані в клінічній практиці для лікування онкологічних та запальних захворювань.

Дисертантом було розроблено методику алкілювання 3-арилокси-7-гідроксихромонів епіхлоргідрином з подальшою взаємодією одержаних сполук із вторинними амінами.

Важливими є результати біологічних досліджень синтезованих сполук на протиракову активність *in cellulo*.

Повнота викладу результатів у наукових публікаціях.

За матеріалами дисертації опубліковано 7 статей у фахових наукових журналах та 10 тез доповідей у матеріалах міжнародних та українських наукових конференцій. Також, отримано 1 деклараційний патент на винахід.

Структура дисертації.

Дисертація складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів дослідження, які викладено в 3 розділах, аналізу та узагальнення результатів роботи, висновків та списку використаних джерел, який нараховує 117 посилань. Дисертація містить 32 рисунки, 14 таблиць, 6 схем та 3 додатки. Загальний обсяг дисертації становить 167 сторінок.

У роботі чітко сформульовано мету і завдання дослідження. Матеріали і методи дослідження відповідають сучасному світовому рівню і цілком відповідають завданням дослідження. Висновки цілком відповідають поставленій меті і завданням дисертаційного дослідження.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому.

Дисертація Приходька А.О. оформлена охайно, написана гарною українською мовою та легко читається. Усі формальні вимоги та рекомендації щодо оформлення кандидатських дисертацій витримано.

Вступ за змістом і об'ємом відповідає існуючим вимогам. Літературний огляд присвячено інгібіторам протеїнкінази СК2. Різні аспекти біологічної активності СК2 розглянуто досить стисло, узагальнено дані стосовно понад 20 хімічних класів відомих інгібіторів протеїнкінази СК2. Ці питання висвітлено повно, список літератури охоплює період до 2015 року і налічує 117 назв. За темою огляду автором опубліковано дві оглядові статті.

В другому розділі «Матеріали та методи» представлено методики синтезу сполук та їх спектрально-аналітичні дані. Наведено протоколи біохімічного тестування сполук, молекулярного моделювання.

Основні результати роботи представлено в наступних трьох розділах. У роботі використано сучасний комплексний підхід до розробки інгібіторів ферментів, у т.ч. кіназ, що включає в себе рецептор-орієнтований віртуальний скринінг бібліотек сполук, хімічний синтез відібраних структур, тестування їхньої біологічної активності *in vitro* та подальшу хімічну оптимізацію, у т.ч. для підвищення водорозчинності інгібіторів. Розроблено ефективні методи синтезу речовин, отримано численну кількість похідних хромону. Розроблені моделі зв'язування використано для передбачення і синтезу нових серій більш активних інгібіторів. У результаті подальшої хімічної оптимізації синтезовано 40 наномолярних інгібіторів. Значення IC₅₀ для найактивнішого інгібітора 4.105 дорівнювало 4нМ , що приблизно в 100 разів нижче, ніж у фізетину, найбільш активного серед відомих природних флавонів, здатних інгібувати СК2.

Автореферат написаний за діючими вимогами і за змістом відповідає основним положенням дисертації.

Необхідно зазначити, що наукові положення, висновки, практичні рекомендації, які запропоновані в дисертаційній роботі, цілком обґрунтовані і

не викликають жодних сумнівів. Це підтверджується великою кількістю синтезованих сполук, хімічну структуру яких доведено комплексом фізико-хімічних методів та елементним аналізом. В цілому особливих зауважень немає. Дисертаційна робота написана літературною мовою. Щодо змісту дисертації є такі уточнення, зауваження та побажання.

- 1) В списку скорочень дуже велика кількість термінів, які як правило зустрічаються в літературному огляді всього 1-2 рази.
- 2) В літературному огляді для багатьох інгібіторів було приведене значення тільки IC_{50} , тоді як більш повною характеристикою інгібуваної активності є значення K_i .
- 3) На деяких схемах не наведені розчинники та/або умови хімічних реакцій.
- 4) В роботі не наведено первинні дані результатів молекулярного докінгу хоча б для синтезованих дисертантом речовин, що не дозволяє більш детально судити про переваги цього етапу роботи.
- 5) Не для всіх інгібіторів СК2 наведено дані з тестування на протиракову активність, що унеможлилює робити висновки про взаємозв'язок цих двох активностей.

Однак, ці недоліки не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи Приходька Андрія Олександровича, оскільки вони не ставлять під сумнів основні наукові висновки та положення, винесені на захист.

Висновок про відповідність дисертації вимогам положення.

Вважаю, що дисертаційна робота **Приходька Андрія Олександровича** «Пошук нових інгібіторів протеїнкінази СК2 серед похідних 4Н-4-хроменону» є завершеною науковою працею і за актуальністю та об'ємом виконаних досліджень, новизною одержаних результатів, їх теоретичним та практичним значенням, ступенем обґрунтованості наукових положень повністю відповідає вимогам щодо «Порядку присудження наукових ступенів», які встановлені для

кандидатських дисертацій, а її автор, заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія.

Офіційний опонент
завідувач відділу синтезу фізіологічно
активних речовин ДУ «Інститут фармакології
та токсикології НАМН України»,
доктор фармацевтичних наук, професор

А. М. Демченко

