

Відгук  
офіційного опонента про дисертаційну роботу  
**Синюгіна Анатолія Ростиславовича**  
“Синтез нових інгібіторів протеїнкінази СК2  
на основі 3-заміщених похідних хіноліну”,  
поданої на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук  
за спеціальністю 02.00.10 — біоорганічна хімія

Важливе значення інгібіторів протеїнкіназ, зокрема застосування їх для лікування онкологічних захворювань, обумовлює активний пошук нових речовин, що можуть мати такі властивості. Серед низькомолекулярних інгібіторів протеїнкіназ є чимало таких, що пройшли випробування і можуть використовуватись у клінічній практиці для лікування раку. Ще більше інгібіторів протеїнкіназ є на різних стадіях клінічних та доклінічних випробувань. Багато дослідницьких груп у різних країнах, використовуючи весь арсенал медичної хімії, ведуть інтенсивні дослідження, скеровані на розширення застосування інгібіторів протеїнкіназ і для інших цілей – для лікування хвороб центральної нервової системи, запальних, метаболічних, автоімунних та інфекційних захворювань. Так, вже встановлено, що інгібітори протеїнкінази СК2 є перспективними препаратами для лікування хвороби Альцгеймера, вірусних і запальних захворювань та для терапії раку. Один з препаратів (Silmitasertib) проходить другу фазу клінічних досліджень як протираковий препарат. З'ясовано, що низькомолекулярними інгібіторами СК2 можуть бути представники досить різних класів органічних сполук. Водночас, аналізуючи уже описані результати, можна дійти висновку про те, що активність та селективність дії явно мають перспективу покращення. Відповідно, є актуальним пошук і розробка нових інгібіторів з покращеною активністю та селективністю із застосуванням нових класів органічних сполук, а саме на це і скерована дисертаційна робота Анатолія Синюгіна. Зокрема, уже згаданий препарат Silmitasertib містить піридохіноліновий фрагмент. Знайдено також інгібітори СК2 серед похідних піrimідинохіноліну та 1Н-хінолін-4-ону, але в літературі немає даних про пошук інгібіторів серед 4Н-хінолін-2-онів.

Дисертаційна робота Синюгіна А.Р. виконана в руслі держбюджетних тем відділу біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

У результаті проведених досліджень автор одержав низку результатів, що вирізняються науковою новизною.

- Розробив способи одержання 3-заміщених похідних хінолін-2-ону та синтезував на їх основі комбінаторні бібліотеки.
- Знайшов нові інгібітори протеїнкінази СК2 і вивчив залежність інгібувальної активності від їх хімічної структури.
- Використовуючи методи гнучкого докінгу, комбінаторної хімії та біохімічного тестування *in vitro* запропонував нові інгібітори протеїнкінази СК2. Вивчив способи їх зв'язування з АТФ-акцепторним сайтом ферменту та виявив структурні особливості сполук, які слід враховувати при оптимізації цих інгібіторів.
- Розробив методи одержання білдінг-блоків для комбінаторного синтезу похідних 2-хіноліон-3-ілпропінових кислот, 2,3-дигідро-1*H*-піроло[2,3-*b*]хіноліну, 3-(амінометил)- та 3-(аміноетил)хінолін-2-онів з відповідних анілідів.
- Знайшов нові інгібітори СК2 серед амідів 7-метоксихінолін-2-он-3-іл-оцтової кислоти із значенням IC<sub>50</sub> у межах 12–16  $\mu\text{M}$ , а після хімічної оптимізації – інгібітор із значенням IC<sub>50</sub> 2,4  $\mu\text{M}$ .
- Знайшов новий клас інгібіторів СК2 серед похідних 2-аміно-3-карбоксихіноліну (IC<sub>50</sub> до 0,65  $\mu\text{M}$ ).
- Вперше дослідив інгібувальну активність 3-карбоксихінолін-2-онів та запропонував напрями хімічної оптимізації 3-карбоксихінолінів (IC<sub>50</sub> до 0,65  $\mu\text{M}$ ).
- З'ясував вплив структурних фрагментів 3-карбоксихінолінів на їхню інгібувальну активність.

Основні положення і висновки дисертації достатньо аргументовані і є обґрунтованими. Їхня достовірність підтверджена експериментальними даними,

які одержано із застосуванням хімічних та фізико-хімічних методів. Висновки не протирічать сучасним теоретичним положенням медичної та біоорганічної хімії. Експериментальні дослідження виконані ретельно і можуть бути відтворені. Індивідуальність, склад та будова нових сполук доведені за допомогою ЯМР-спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії, тонкошарової хроматографії. Експерименти, що стосуються вивчення біологічної активності, виконані коректно.

Практичним доробком дисертаційної роботи можна вважати запропоновані методи синтезу похідних  $1H$ -хінолін-2-ону з широкою варіативністю замісників у положенні 3 та у бензольному кільці, перевагою яких є вищі виходи і доступність вихідних реагентів. Знайдено нові інгібітори СК2 серед 3-карбокси- $4H$ -хінолінів, які можна застосовувати у біохімічних дослідженнях та для розробки нових фармацевтичних препаратів. Для пошуку інгібіторів СК2 синтезовано 6 комбінаторних серій амідів і сульфамідів 3-заміщених похідних 2-хінолону та похідних піроло[2,3-*b*]дигідрохіноліну. Вироблено практичні рекомендації для хімічної оптимізації інгібіторів на основі похідних  $21H$ -хінолін-2-ону.

Особливо слід відзначити те, що автор знайшов два нові класи низькомолекулярних інгібіторів протеїнкінази СК2 та дослідив їх зв'язування з ферментом. Ці інгібітори можна використовувати у дослідженнях з медичної хімії для вивчення особливостей функціонування протеїнкінази СК2.

Дисертаційна робота Синюгіна А.Р. містить всі необхідні складові частини. У чотирьох розділах з шести описані власні дослідження та аналіз результатів.

Перший розділ дисертації (літогляд) добре узгоджується з метою роботи. В ньому наведені літературні дані стосовно інгібіторів протеїнкіназ і детально – стосовно відомих методів синтезу класів 3-заміщених похідних  $4H$ -хіноліну. В кінці розділу варто навести коротке резюме.

У короткому другому розділі описані матеріали та методи досліджень, зокрема, комп’ютерного моделювання і біохімічного скринінгу.

Третій розділ (основний) присвячений пошуку інгібіторів протеїнкінази СК2 серед 3-заміщених похідних хінолін-2-ону. Пошук інгібіторів протеїнкінази СК2 здійснено за методологією раціонального пошуку лікарських засобів (rational drug design). Спочатку проводили рецепторно-орієнтований віртуальний скринінг бібліотеки 3-заміщених похідних 2-хіноліону (блізько 3000 сполук) за допомогою гнучкого докінгу. Після відсіювання за критеріями Ліпінського проведено докінг сполук в АТФ-зв'язувальну кишенню каталітичної субодиниці протеїнкінази СК2 людини. Серед відібраних за результатами докінгу сполук дисертант визначив 4 основні класи амідів і сульфамідів 3-заміщених похідних хінолін-2-ону (ВВ1–ВВ4), низку похідних піроло[2,3-*b*]дигідрохіноліну (ВВ5) та 3-заміщених похідних хінолін-2-ону з вільною карбоксильною групою (А1, А2).

Автор розробив підхід до синтезу комбінаторних бібліотек на основі похідних 4Н-хінолін-2-ону. Застосовано препаративно зручний спосіб конструювання хінолінового фрагмента (метод Отто Меш-Кона), де вихідними сполуками є аміди комерційно доступних і відносно недорогих анілінів, а циклізація відбувається під дією комплексу Вільсмайєра в оксихлориді фосфору. Варто відзначити широку варіативність замісників у бензольному кільці та у положенні 3 хіноліну, хоча виходи зазвичай невисокі.

У цьому розділі описано паралельний рідиннофазний високопродуктивний комбінаторний синтез комбінаторних бібліотек 3-заміщених похідних хіноліну на основі білдінг-блоків ВВ1–ВВ5, що робить можливим їх ширше застосування. Далі дисертант дослідив взаємозв'язок «хімічна структура – біологічна активність» та виявив типи зв'язування синтезованих сполук із АТФ-акцепторним сайтом СК2.

У четвертому розділі описана хімічна оптимізація амідів 3-заміщених похідних хінолін-2-ону. Визначено структури 15 амідів 3-карбоксихіноліну, які було синтезовано та протестовано *in vitro*. І дійсно, виявилось, що 12 із 15 одержаних похідних хіноліну пригнічують активність протеїнкінази СК2 з IC<sub>50</sub> у діапазоні 2,3–33 μM. Дисертант довів, що інгібувальна активність амідів 3-

заміщених похідних хінолін-2-ону зростає із зближенням амідної СО-групи лінкера з хінолін-2-оновим фрагментом і зменшенням довжини ліганду.

У п'ятому розділі описана хімічна оптимізація і синтез похідних хінолін-2-он-3-карбонової кислоти (A2). Оскільки 7-брому-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонову кислоту виявилась досить активною, автор провів додатковий віртуальний скринінг для пошуку нових інгібіторів СК2 серед похідних хінолін-3-карбонової кислоти. Він встановив, що взаємодія сполуки з АТФ-зв'язувальною кишенею СК2 відбувається за рахунок гідрофобних контактів із п'ятьма амінокислотними залишками кінази та двох водневих зв'язків. Враховуючи це, було обрано і реалізовано декілька шляхів структурної оптимізації похідних хінолін 3-карбонових кислот. У результаті проведеної хімічної оптимізації вдалося на 2 порядки підвищити інгібувальну активність похідних хінолін-3-карбонової кислоти. Знайдені інгібітори можна використовувати в біологічних дослідженнях та розглядати як перспективні сполуки-хіти для подальшої хімічної оптимізації.

У невеликому шостому розділі йдеться про синтез і дослідження інгібіторів на основі 3Н-нафто[1,2,3-de]хінолін-2,7-діонів, які виявились неактивними щодо СК2 протеїнкінази, але були активними інгібіторами протеїнкінази ASK1.

Висновки до роботи викладені лаконічно. Ознайомлення з роботою свідчить про те, що Синюгіна А.Р. отримав науково вагомі результати.

Зауваження до роботи:

- При описі сполук, наприклад в експериментальній частині до розділу 1, крім даних спектрів ЯМР  $^1\text{H}$  слід було наводити дані мас-спектрометрії чи елементного аналізу, або ж порівнювати з літературними даними, якщо такі були.
- При описі спектрів ЯМР  $^1\text{H}$  у багатьох випадках не вказано константи спін-спінової взаємодії. При описі сполук 1.5a та 1.5b (стор.42) замість СН слід писати Ar. Що означає віднесення сигналів  $\text{C}_2\text{H}_2$  у спектрі сполуки 4.3d? У спектрах 2.10b, с не вказано другої КССВ ( $\sim 16$  Гц) для фрагменту *транс*-CH=CH.

- Для сполук 2.8 не вказані температури топлення. Виходи варто було наводити, крім відсотків, у грамах.
- Нумерація сполук у різних розділах довільна і не наскрізна. Це ж стосується нумерації рисунків і схем. Зокрема, відзначу загадковий принцип нумерації схем у розділі 1 (3.3, 4.1 тощо).
- Іноді замість «новий метод» (синтезу) доцільніше вживати «модифікований».
- Посилання [51] на стор. 12 не є патентом, як вказано у тексті. У схемі 2.3.2 пропущено малоновий естер. У назві ЗН-нафто[1,2,3-de]хінолін-2,7-діонів (стор. 113) ребра не слід позначати кирилицею ([1,2,3-де]).
- Різне форматування тексту, інколи – в межах однієї сторінки. Загалом, дисертацію слід було оформити ретельніше. Це ж стосується оформлення бібліографії, зокрема патентів.
- У роботі чимало граматичних помилок (експериментальна), невиправлених описок.

Наведені зауваження не применшують наукового рівня роботи.

Автореферат і опубліковані праці у повній мірі відображають зміст дисертації.

Вважаю, що дисертаційна робота Синюгіна А.Р. “Синтез нових інгібіторів протеїнкінази СК2 на основі 3-заміщених похідних хіноліну”, є завершеним науковим дослідженням, виконана на належному науковому рівні і відповідає вимогам до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 — біоорганічна хімія.

Офіційний опонент

доктор хімічних наук, професор

завідувач кафедри органічної хімії

Львівського національного університету

імені Івана Франка

М.Д. Обушак

Підпис М.Д. Обушака засвідчує:

Вчений секретар

Львівського національного університету

імені Івана Франка, доцент



О.С. Грабовецька