

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертацію Ганни Миколаївни Зінченко

“Синтез та властивості 4,7-функціонально заміщених піридо[2,3-*d*]піримідинів”,

подану на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук

за спеціальністю 02.00.10 “Біоорганічна хімія”

Дисертаційна робота Ганни Миколаївни Зінченко присвячена передусім проблемам хімічного синтезу й реакційної здатності нових похідних піридо[2,3-*d*]піримідину, заміщених у положеннях C4 та C7. Крім цього, в роботі досліджено також біологічну активність сполук як інгібіторів протеїнкінази СК2 людини.

Актуальність теми дослідження не викликає сумнівів. Синтез потенційних біологічно активних речовин різного спрямування є пріоритетним напрямком розвитку біоорганічної хімії. Зокрема, у світі активно розвиваються дослідження щодо синтезу таких речовин на основі конденсованих гетероцикліческих систем. Значний інтерес тут становлять структурні аналоги пуринів, зокрема, піридо[2,3-*d*]піримідини, серед яких знайдено цілий ряд терапевтичних препаратів, частина з яких вже використовується в клінічній практиці для лікування аутоімунних та онкологічних захворювань. Тому важливим завданням сучасної біоорганічної хімії є розробка зручних методів отримання нових функціонально заміщених похідних піридо[2,3-*d*]піримідину, а також дослідження біологічної активності цих сполук, зокрема, як інгібіторів протеїнкіназ.

Дисертаційну роботу було виконано в безпосередньому зв’язку з науковою тематикою відділу хімії природних сполук Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України.

Основним завданням даної роботи була розробка нових і вдосконалення вже відомих підходів до синтезу функціоналізованих піридо[2,3-*d*]піримідинів, перш за все, аміно-заміщених у різних положеннях похідних, а також пошук серед них біологічно активних сполук. Ці завдання вирішувались автором за допомогою поєднання синтетичних, біохімічних, а також розрахункових методів досліджень.

Дисертація організована за звичною схемою і складається зі вступу, трьох розділів, висновків та списку використаних літературних джерел; робота містить також анотацію й додаток (спісок публікацій дисертанта). Загальний обсяг дисертації становить 152 сторінки.

Літературний огляд присвячено передусім аналізу й узагальненню існуючих даних щодо методів синтезу піридо[2,3-*d*]піримідин-7-онів. При цьому синтетичні методи класифіковано на основі структури вихідного реагенту. Виходячи з літературних даних, до найпоширеніших реагентів належать відповідно заміщені

піримідини, з якими можна анелювати піридиновий цикл з утворенням цільового конденсованого гетероциклу. Крім цього, в огляді розглянуто основні типи біологічної активності похідних піридопіримідину. Огляд свідчить про хороше знання дисертанта у сфері своїх наукових досліджень. Він добре структурований і документований – список літератури в роботі містить 165 найменувань.

Основні результати, отримані автором роботи, представлено в наступних двох розділах дисертації.

Спершу зупинимось на експериментальній частині роботи (Розділ 3). В ній наведено деталі використаних експериментальних та розрахункових методів. Описано методики синтезу й методи аналізу сполук, наведено їхні фізико-хімічні характеристики. Крім цього, в даному розділі представлено протокол біологічного тестування речовин у ферментативній системі на основі протеїнкінази СК2 та методологію молекулярного моделювання.

У Розділі 2 дисертаційної роботи обговорюються результати проведених автором експериментальних і теоретичних досліджень. Їх основні напрямки включали розробку методів синтезу сполук, вивчення їхньої реакційної здатності, тестування біологічної активності речовин як інгібіторів протеїнкінази СК2 *in vitro* і комп’ютерне моделювання взаємодії інгібіторів з даним ферментом. В роботі синтезовано, повністю охарактеризовано й досліджено велику кількість нових речовин.

Отримані результати відзначаються незаперечною науковою новизною. Основні досягнення ми бачимо в області синтетичної біоорганічної хімії.

Можна відзначити, зокрема, отримання нових 4,7-функціонально заміщених піrido[2,3-*d*]піримідинів з використанням конденсацій доступних піримідин-5-карбальдегідів та реакцій внутрішньомолекулярної циклізації (при цьому на першому етапі процесу часто використовуються фосфонієви реагенти).

Розроблено зручні методи синтезу нових піrido[2,3-*d*]піримідин-7-онів та 7-амінопіrido[2,3-*d*]піримідинів, що містять залишки первинних і вторинних ациклических і цикліческих амінів у положенні С4.

Цікаві результати отримано автором при вивчені взаємодії естерів гліцину з похідними піримідин-5-карбальдегіду. Так, встановлено, що така реакція з 4,6-дихлорзаміщеним альдегідом у присутності триетиламіну веде до утворення N-(5-формілпіримідин-4-іл)гліцинатів та продуктів циклізації – похідних піроло[2,3-*d*]піримідину та піrido[2,3-*d*]піримідину. Суміш продуктів реакції вдалося хроматографічно розділити та ідентифікувати кожен із них. Їхнє співвідношення можна регулювати підбором умов реакції (співвідношенням реагентів).

Запропоновано механізм такої не зовсім звичної трансформації: на першому етапі реакції відбувається не утворення основи Шиффа з аміногрупою гліцину, а

нуклеофільне заміщення атома хлору в положенні С6 альдегіду з наступною реакцією з другою молекулою гліцину та циклізацією, яка проходить у кількох напрямках. На нашу думку, це справжня “родзинка” цієї дисертаційної роботи.

Розроблено ефективний та препаративно зручний одноколбовий спосіб отримання 6-амінопіrido[2,3-*d*]піrimідин-7-онів реакцією 4-амінопіrimідин-5-карбальдегідів з метиловим естером N-(4-метоксибензиліден)гліцину.

Досліджено інгібувальну активність нових сполук щодо протеїнкінази СК2. Тут доречно зазначити, що піридопіrimідини є ізостерами пуринів (зокрема, 4-амінозаміщені – аналоги аденину), тому цілком природно, що похідні цього класу можуть впливати на ферменти типу кіназ, що містять АТФ-зв’язувальний сайт.

В результаті дослідження серії сполук (структурі відібрано за результатами молекулярного докінгу бібліотеки сполук) у кіназній ферментативній тест-системі *in vitro* ідентифіковано два нових інгібтори ферmenta з досить високим рівнем біологічної активності (IC_{50} 6,0 та 19,5 мкМ). Цей результат свідчить про явну перспективність структурної модифікації похідних піrido[2,3-*d*]піrimідину з метою пошуку серед них інгібторів протеїнкіназ (як СК2, так і інших ферментів цього класу) зі значно вищою активністю.

Важливим для успіху подальших досліджень у цьому напрямку є розуміння механізмів біологічної дії інгібіторів, зокрема, способів їхньої взаємодії зі своєю молекулярною мішенню. Молекулярне моделювання дозволило запропонувати можливий спосіб зв’язування виявлених інгібторів з АТФ-акцепторним сайтом кінази СК2, що теж становить значний науковий інтерес.

Між іншим, цікаво було би дослідити інгібувальну активність щодо кінази похідних *pিrolو[2,3-*d*]піrimідину* – гетероциклу, структурно близчого до аденину порівняно з піридопіrimідином.

Результати роботи мають і вагоме практичне значення. Воно полягає перш за все у розробці препаративних методів синтезу (у т.ч. одноколбових підходів) нових похідних піrido[2,3-*d*]піrimідин-7-ону та 7-амінопіrido[2,3-*d*]піrimідину. Крім усього іншого, такі структури є перспективними скаfoldами для дизайну та синтезу нових біологічно активних сполук. Іншим важливим результатом роботи є ідентифікація нових інгібторів кінази СК2, активних у низьких мікромолярних концентраціях.

Отже, в дисертації представлено цілий ряд нових, цікавих, актуальних та перспективних наукових і науково-практичних результатів.

В роботі використано різноманітні методи досліджень: крім очевидних методів, звичних для робіт з біоорганічної хімії (синтетичні, хроматографічні та спектроскопічні методи, рентгеноструктурний аналіз), використано біохімічні методи (тестування в ферментативній системі *in vitro*) й підходи молекулярного

моделювання (докінг). Таким чином, результати роботи отримано за допомогою комплексу адекватних і сучасних експериментальних та розрахункових методів досліджень, і їхня достовірність не викликає сумнівів.

До дисертації є й певні зауваження, серед яких відзначимо наступні.

1. Існують певні застереження щодо структури сполук **2.24a-b**. Вони містять по 2 хіральних центри, і для них можливі по 4 діастереомери (*R,R, R,S, S,R, S,S*), із яких 2 є *цис*- і 2 – *транс*-ізомерами. Із ПМР-спектрів зрозуміло, що сполукам приписано *цис*- чи *транс*-структурі на основі констант спін-спінової взаємодії протонів H5-H6, але на якій підставі асиметричним центрам C5 і C6 приписана цілком визначена оптична конфігурація (схема 2.8, методики на с. 75-76)?

2. В експериментальній частині при описі хромато-мас-спектрометричного аналізу не вказані умови хроматографії (сорбент, колонка, розчинник, градієнт). В записі мас-спектрів величини *m/z* представлено як цілі числа, а слід наводити їх з точністю до десятих (її забезпечує використаний прилад Agilent).

3. Опис біохімічного тестування в кіназній системі занадто стислий. Так, ні в експериментальній частині, ні в обговоренні не пояснено, що таке люциферазна реакція, непряма детекція, як саме визначали значення IC₅₀ інгібіторів.

4. У списку скорочень багато загальновживаних (метил, етил, феніл, тощо), і при цьому не вистачає розшифровки ряду менш відомих, особливо для хіміків, абревіатур (АТФ, СК2, EGFR, logP, IC₅₀ та ін.). В цьому ж списку *v* визначено як “валентні коливання”, правильно – частота валентних коливань.

5. На нашу думку, висновки (пункт 7) цілком доречно було би доповнити, вказавши, що запропоновано модель зв'язування інгібіторів з АТФ-акцепторним сайтом протеїнкінази СК2.

Ці недоліки незначні, не носять принципового характеру й жодним чином не знижують загального високого рівня дисертаційної роботи й переконливості отриманих автором результатів.

Представлена до офіційного захисту робота безумовно відповідає заявленій спеціальності (біоорганічна хімія).

Висновки дисертації цілком обґрунтовані, стислі, чітко сформульовані й відображають зміст роботи та її результати. Зміст автoreферату відповідає змістові самої дисертації та відображає її основні положення.

Результати дисертаційної роботи повністю опубліковані, всі статті вийшли друком у провідних наукових фахових виданнях, що свідчить про високий рівень роботи. Серед 5 статей особливо відзначимо публікацію в такому рейтинговому міжнародному журналі, як *European Journal of Organic Chemistry* (видавництво Wiley, імпакт-фактор 3.029). Результати викладено також у 8 тезах доповідей на представницьких наукових конференціях, у т.ч. на кількох міжнародних.

Отже, у представленій до захисту дисертації на високому теоретичному й експериментальному рівні досліджено проблеми хімічного синтезу заміщених піридо[2,3-*d*]піримідинів, а також деякі аспекти біологічної активності таких похідних. Актуальність проблеми, значний обсяг проведених досліджень, наукова новизна і практичне значення отриманих результатів свідчать про те, що перед нами завершена наукова праця, що становить вагомий внесок у біоорганічну й органічну хімію в цілому та хімію гетероциклічних сполук зокрема.

Виходячи з цього, вважаю, що робота Ганни Миколаївни Зінченко “Синтез та властивості 4,7-функціонально заміщених піридо[2,3-*d*]піримідинів” цілком відповідає всім вимогам, що сьогодні висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор повністю заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 – “Біоорганічна хімія”.

Офіційний опонент:

заступник завідувача відділу синтетичних біорегуляторів
Інституту молекулярної біології та генетики
НААН України, доктор хімічних наук

I.Y. Дубей

Підпись Дубей І.Я.
посвідчуємо
Зав. наук. І.С. Плещеєв