

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу Протопопова Миколи Васильовича "Розробка біодоступних інгібіторів протеїнази СК2", подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

Актуальність проблеми. Дисертаційна робота Протопопова М.В, присвячена розробці нових інгібіторів протеїнкінazi казеїн кінazi II типу людини або СК2 з використанням методів віртуального скринінгу, біохімічного тестування та структурно-біологічного аналізу особливостей ліганд-рецепторної взаємодії. Відповідно до цього була поставлена мета: розробити нові низькомолекулярних органічних сполук з інгібувальною активністю щодо протеїнкінazi СК2 людини з покращеними показниками біодоступності з використанням методів комп'ютерного моделювання.

Вибір саме протеїнкінazi СК2 обумовлений залученістю цієї протеїнкінazi до низки патологічних процесів, зокрема підвищений рівень активності та експресії СК2 спостерігається при різного роду онкологічних захворювань (карцинома легень та молочної залози, меланоми та інш.). Також варто зазначити, що досі на фармацевтичному ринку не представлено жодного лікарського засобу на основі інгібіторів СК2.

Сучасні методологічні підходи до розробки біологічно активних сполук повинні включати застосування методів обчислювальної біології та хімії. Використання обчислювальних методів, зокрема молекулярного докінгу та фармакофорного моделювання, дає змогу значно прискорити процедуру розробки нових біологічно-активних речовин, зокрема, нових ліків та суттєво зменшити об'єм матеріальних витрат на розробку.

Тому вважаю, що головна задача дисертаційного дослідження Миколи Васильовича, яка полягала в розробці нових інгібіторів протеїнкінazi СК2 з використанням методів віртуального скринінгу та біохімічного тестування є актуальною і перспективною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота відповідає плану фундаментальних досліджень, що проводяться в відділі біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України: «Раціональний дизайн інгібіторів протеїнкіназ як попередників лікарських засобів» (номер державної реєстрації 0112U004110, 2013–2017 рр.).

Основні результати, отримані дисертантом, їх наукова новизна та практичне значення.

Автором було знайдено та детально охарактеризовано 7 класів низькомолекулярних інгібіторів протеїнкінази СК2. 4-метил-1,3-тіазол-5-карбонові кислоти (найбільш активна сполука має IC_{50} 0,4 мкМ), дигідробензо[4,5]імідазо[1,2-а]піримідин-4-они (IC_{50} знайдених інгібіторів лежать в межах від 2,7 до 7 мкМ), 2-піридини (IC_{50} найактивнішої сполуки 8,3 мкМ), пурин-2,6-діони (IC_{50} найбільш активної сполуки – 8,5 мкМ), піридо[2,3-d]піримідини (IC_{50} – 6 мкМ) були знайдені з використанням методів молекулярного докінгу та фармакофорного моделювання. IC_{50} знайдених інгібіторів лежить в межах від 0,4 до 20 мкМ. Для всіх класів сполук побудовані комплекси взаємодії ліганд-рецептор та проаналізовані міжмолекулярні взаємодії.

Також Протопоповим М.В. було детально проаналізовано структури та залежності «структура-активність» відомих інгібіторів СК2 та на основі цих даних розроблено два нових класи інгібіторів протеїнкінази СК2 5-гетериламіно-1H-індазоли та бензиліденбензофуран-3(2H)-они, серед яких було ідентифіковано наномолярні інгібітори. IC_{50} сполуки **WFO13** становить 3,6 нМ, а якщо говорити про її ліпофільну ефективність, то $CLipE$ цієї сполуки дорівнює 4,94, що є вищим ніж в еталонного інгібітора СК2 CX-4945.

Ще одним досягненням цього дослідження є те, що автор окрім активності сполук досліджує їх фізико-хімічні властивості, що впливають на так званий ADMET/Tox профіль сполуки. Це важливо при подальших дослідженнях сполук в якості кандидатів в лікарські засоби.

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

Дисертація написана за класичною схемою. Вона складається з 7 розділів. В огляді літератури детально описані сучасні методи і підходи до створення нових ліків та структура і роль протеїнкінази СК2. При виконанні наукового дослідження були використані методи розрахункові та біохімічні методи, що адекватно відповідають поставленим завданням.

За результатами роботи сформульовано 6 висновків, що ґрунтуються на фактичному матеріалі та відповідають поставленим завданням роботи. Високий ступінь обґрунтованості та об'єктивності результатів досліджень і висновків, наведених в дисертації, підтверджується фактичним матеріалом, наведеним в експериментальній частині, та ґрунтовністю його аналізу.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 15 праць, з них 8 статей у фахових наукових журналах та 7 виступів на вітчизняних та міжнародних наукових з'їздах та конференціях.

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації.

При розгляді дисертаційної роботи виник ряд зауважень та дискусійних моментів.

1. В розділі 3 проведено аналіз різних методів розрахунку LogP , але надалі в дисертації немає чіткого пояснення для яких сполук, яким методом розраховували цей параметр.

2. З тексту дисертації не зрозуміло, чим було обумовлено використання різних бібліотек низькомолекулярних сполук для пошуку інгібіторів СК2. (Підрозділи 4.1-4.5)

3. Описуючи особливості взаємодії інгібіторів з АТФ-акцепторним сайтом СК2, автор робить висновки виключно на підставі молекулярного докінгу. Це статичний опис механізмів зв'язування. Як на мене, варто було застосувати додаткові методи, (наприклад молекулярну динаміку) для більш чіткого опису взаємодії.

4. Показник ліпофільної ефективності розрахований не для всіх протестованих сполук. Це унеможлиблює порівняльний аналіз біодоступності для всіх досліджуваних сполук в дисертаційному дослідженні.

Проте, вважаю, що вищевказані зауваження не применшують результати і значення роботи. Загалом вони носять рекомендаційний і дискусійний характер і не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до кандидатських дисертацій.

Дисертаційна робота Протопопова Миколи Васильовича «Розробка біодоступних інгібіторів протеїнкіназ СК2», є цілісною, закінченою науковою працею, що повною мірою відповідає вимогам п.п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), що висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор — Протопопов Микола Васильович - заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

доктор фармацевтичних наук,
професор кафедри хімії та фармації,
Ніжинського державного університету
імені Миколи Гоголя



Демченко Анатолій Михайлович

ЗАСВІДЧУЮ:
Док. хімічних наук
к. т. Демченко