

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертацію Протопопова Миколи Васильовича «РОЗРОБКА БІОДОСТУПНИХ ІНГІБІТОРІВ ПРОТЕЇНКІНАЗИ СК2» за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія

Актуальність теми дисертаційної роботи Миколи Васильовича стає очевидною, коли дізнаєшся про надважливі функції кazeїн кiнази 2, бо цей фермент відповідальний за фосфорилування субстратів у ключових внутрішньоклітинних шляхах, СК2 має подвійну функціональність і регулює як проліферацію клітин, так і апоптоз. Антиапоптотична функція СК2 полягає у реалізації клітинного циклу від G1 до S та від G2 до M фази. Цей фермент бере участь також в репарації ДНК, фосфорилує білок p53 та MAPK, що в цілому пояснює увагу онкологів до цього ферменту, активність якого зростає при пухлинних захворюваннях різних органів. Але не лише онкологією обмежене значення цього ферменту. Дослідженнями патогенезу SARS-Cov2 останнього року показано, що активність цього ферменту виходить з під контролю при COVID-19 і специфічний інгібітор цієї кiнази Siltimasertib вже проходить клінічні дослідження для оцінки ефективності та безпечності при цьому вірусному захворюванні. Незаперечно, що пошук нових, більш специфічних та потужних інгібіторів із високою біодоступністю цього ферменту має велику перспективу та визначає актуальність дисертаційної роботи.

Наукова новизна отриманих результатів. В роботі було досліджено 7 хімічних класів інгібіторів протеїнкінази СК2, отримано 53 нові ефективні інгібітори протеїнкінази СК2, встановлено найбільш перспективні класи сполук для подальших досліджень, а саме 5-гетериламіно-1H-індазоли, бензиліденбензофуран-3(2H)-они та похідні 4-метил-1,3-тіазол-5-карбонової кислоти. Також проведено оптимізацію сполук з урахуванням активності та фізико-хімічних параметрів для покращення їхньої біодоступності та

запропоновано для синтезу 86 нових похідних ауруну. В результаті проведеної оптимізації було розроблено 7 наномолярних інгібіторів СК2.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Отримані наукові положення і висновки обґрунтовані достатнім обсягом досліджені методом віртуального скринінгу (рецепторно-орієнтований фармакофорний скринінг та молекулярний докінг) в поєднанні з *in vitro* тестуванням. Висновки роботи є логічними, аргументованими та базуються на отриманих результатах.

Якість використаних для дослідження методів, репрезентативність отриманих результатів. Робота виконана на сучасному методичному рівні: комп'ютерні методи рецепторно-орієнтований пошуку, молекулярного докінгу, ліганд-орієнтованого аналізу разом із біохімічними дослідженнями бути застосовані для отримання наукових результатів. Достатній об'єм проаналізованого матеріалу та ретельний статистичний аналіз дозволили вирішити поставлені задачі, зробити логічні висновки, що витікають із проведеного дослідження.

Практичне значення одержаних результатів очевидно, бо кожна з відібраних, оптимізованих та досліджених сполук після проведення експериментів *in vivo* та при експериментальній патології може перейти до до клінічних та клінічних досліджень та бути впроваджена в якості нового протипухлинного або противірусного препарату.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертацію виконано відповідно до плану наукових досліджень в рамках бюджетної теми відділу біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України: «Рациональний дизайн інгібіторів протеїнкіназ як

попередників лікарських засобів» (номер державної реєстрації 0112U004110, 2013–2017).

Загальна характеристика роботи. Дисертаційна робота викладена на 193 сторінках (і додадків на 10 стор.), складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Робота проілюстрована 54 рисунками, результати містяться у 19 таблицях. Перелік використаної літератури включає 190 джерело.

Розділ “Огляд літератури” охоплює велику кількість літературних даних по темі дисертаційної роботи із детальною інформацією про комп’ютерні методи розробки лікарських засобів: рецепторно-орієнтований метод, молекулярний докінг, ліганд-орієнтований методи розробки лікарських засобів та інші. Далі дисертант наводить наявну інформацію про фермент СК2, починаючи з відкриття ферменту, дослідженнями, що дали розуміння її функції і закінчуючи аналізом усіх відомих інгібіторів цієї протеїнази.

У розділі «Матеріали та методи» описано технологію молекулярного докінгу, рецепторно-орієнтованого фармакофорного моделювання, рескорингу результатів молекулярного докінгу та біохімічного тестування.

У розділі „Результати досліджень” наведено результати фармакофорного моделювання, оптимізації молекул та біохімічних досліджень.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» дозволяє автору зібрати разом велику кількість фактичного матеріалу, наведеного у попередніх розділах та зробити логічні висновки, що безпосередньо впливають із результатів роботи.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті. Наукові положення дисертаційної роботи зроблені ним

висновки та рекомендації, що чітко сформульовані в дисертації, досить повно відображені в опублікованих 15 наукових працях, із яких 8 статей, що опубліковані у фахових вітчизняних та міжнародних наукових виданнях, та 7 тез доповідей у матеріалах міжнародних і вітчизняних наукових з'їздів та конференцій. Основні положення дисертації знайшли ґрунтовне і логічне відображення у бездоганно оформленому авторефераті, який повністю відповідає змісту дисертації.

ЗАУВАЖЕННЯ.

1. Автор доклав великих зусиль для розрахунку та покращенні ліофільності нових інгібіторів протеїнкінази СК2 і у першому висновку вказує параметр LogP, що рекомендує використовувати для оцінки ліпофільності інгібіторів, але експериментальної перевірки ці розрахунки не зазнали. Для тестування *in vitro* була застосована лише очищений каталітичний домен протеїнкінази СК2 (СК2 α) без штучної ліпідної оболонки.

2. У висновках не фігурують результати біохімічного тестування відібраних сполук, або вони дуже майстерно приховані із незрозумілих причин.

3. В останньому висновку роботи йдеться про біодоступність 7 досліджених хімічних класів інгібіторів протеїнкінази СК2, але це лише розрахункова доступність, немає експериментальних доказів, що відібрані молекули хоча б не є цитотоксичними.

ЗАКЛЮЧЕННЯ.

Дисертаційна робота Протопопова Миколи Васильовича «Розробка біодоступних інгібіторів протеїнкінази СК2», подана до спеціалізованої вченої ради Д.26.237.01 Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, за своєю актуальністю, науковим і практичним значенням, глибиною і обсягом досліджень, змістом та оформленням повністю

відповідає вимогам ДАК України про присудження наукових ступенів стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а її виконавець – Протопопов Микола Васильович заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

**Завідувач відділу загальної
та молекулярної патофізіології
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця
НАН України,
д.мед.н., проф.**

В.Є. Досенко

