

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.

Створення хімічних сполук, чия дія спрямована на певні пов’язані з патологічними процесами клітинами, що з легкої руки Пауля Ерліха набуло назви хіміотерапії, ведеться вже понад сторіччя і зазнає неперервного розвитку та удосконалення. При цьому поглиблення знань з молекулярних механізмів функціонування живих організмів та їх відхилень від норми за патологічних процесів постійно збільшує кількість потенційних мішеней для хіміотерапії. Серед подібного роду мішеней істотне місце належить протеїнкази СК2, чия надмірна експресія чи активація відмічена за цілої низки патологічних процесів. Тому тема розглянутої роботи – розробка біодоступних інгібіторів цього фермента – видається актуальною і заперечень не викликає. При цьому неосяжність кількості сполук, що могли б виявляти відповідну дію, виключають їх оцінку прямим тестуванням за безпосереднім впливом на опосередкований протеїнказою СК2 АТФ-залежний процес фосфорилування. Тож попереднє застосування сучасних методів комп’ютерного моделювання, зокрема – молекулярного докінгу структур потенційних інгібіторів щодо їх комплементарності з активним центром фермента – видається виправданим та необхідним. Більше того, вважаю, що подібного роду роботи знаходяться на самому передньому краї досліджень в галузі біохімії та молекулярної біології, чий поступ значною мірою обумовлено розвитком комп’ютерних технологій.

Виходячи з подібних міркувань, сформульовано мету роботи – розробити нові низькомолекулярні органічні інгібітори протеїнкази СК2 з покращеними показниками біодоступності з застосуванням комп’ютерного моделювання. Особливості поставленої мети обумовило й структуру практичних завдань роботи, що включають аналіз відомих методів розрахунку показників міжмолекулярної компліментарності білків та низькомолекулярних сполук, відбір серед них найбільш відповідного задачі дослідження, проведення скринінгу відомих низькомолекулярних сполук та оцінку їх потенційної здатності до інгібування протеїнкази СК2, провести експериментальну перевірку відповідності розрахованих показників їх впливу на активність протеїнази СК2, зокрема – щодо здатності до взаємодії з АТФ-зв’язувальною кишенею фермента, оптимізувати виявлені інгібітори щодо їх біодоступності. Подібна деталізація повною мірою відповідає меті і

заперечень не викликає. Особливості роботи обумовили компоновку роботи, що складається зі вступу, огляду літератури, методичної частини, аналізу методів розрахунку показника ліофільності LogP, пошуку інгібіторів протеїнкінази СК2 серед комбінаторних бібліотек органічних сполук, двох глав, присвячених розробці інгібіторів протеїнкінази СК2 на основі похідних 5-гетериламіно-1H-індазолів та аурону, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку цитованої літератури та додатку А - переліку опублікованих за темою дисертації робіт. Останній, щоправда, чомусь дублює список, наведений на початку дисертації. Варто зазначити, що через новизну напрямку роботи переважна більшість цитованої літератури належить до останнього десятиріччя.

Як видно, в даній роботі основний наголос зроблено на комп'ютерному моделюванні відповідності оцінюваних сполук структурним вимогам, обумовленим будовою активного центра протеїнкінази СК2, зокрема – АТФ-зв'язувальної ділянки. Однак не менш цікаво є й методична частина експериментальної перевірки впливу відібраних сполук на взаємодію протеїнкінази СК2 з ^{32}P -міченою АТФ. За допомогою розробленого автором алгоритму дослідження проаналізовано та оцінено *in silico* за потенційними інгібіторними властивостями 353 сполуки, що належали до 7 різних класів. Серед них виявлено 51 сполуку з високим показником інгібування, підтвердженим за дослідями *in vitro*. Оцінено роль окремих замісників в структурі досліджених сполук. З урахуванням отриманих даних виявлено 20 сполук з високою ($\text{IC}_{50} < 10^{-6} \text{ M}$) інгібіторною дією. Визначено найбільш перспективні сполуки, що заслуговують на подальше дослідження. Тож можна впевнено говорити про виконаний на найвищому методичному рівні скринінг потенційних інгібіторів протеїнкінази СК2 з експериментальним підтвердженням результатів молекулярного докінгу дослідями *in vitro*.

Висновки роботи повною мірою відповідають отриманим результатам і заперечень не викликають. Наукові здобутки роботи опубліковано у 8 статтях у фахових журналах, неодноразово доповідались на вітчизняних та міжнародних наукових з'їздах та конференціях.

Принципових зауважень до роботи немає. Оформлення як роботи, так і автореферату виконано на високому рівні. Щоправда, говорити про інгібіторну активність не дуже коректно, оскільки активність притаманна ферментам, а інгібітори можуть лише виявляти дію чи вплив. Єдине істотне зауваження органічно випливає з достоїнств виконаної роботи і обумовлене побічною дією біологічно активних хімічних сполук. Виявлені автором інгібітори відзначаються комплементарністю до АТФ-зв'язуючої ділянки протеїнкінази СК2. Але ж ця властивість забезпечує їм можливість блокувати

найрізноманітніші білкові системи, функціонально пов'язані з АТФ. Це ставить питання про цитотоксичність та біосумісність виявлених автором інгібіторів. Відомо безліч прикладів, коли з цілої низки сполук, ефективних *in vitro*, застосування знає не найбільш ефективна, а максимально біосумісна. Що автор думає з цього приводу?

Наведене зауваження не впливає на високу оцінку роботи вцілому. Вважаю, що розглянута дисертаційна робота 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 зі спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

Офіційний опонент

завідувач лабораторії біохімії

ДУ "Інститут отоларингології ім. проф. О.С.Коломійченка НАМН України",

доктор біологічних наук, професор

Верьовка С.В.

