

Отзыв официального оппонента доктора химических наук, профессора Уткина Юрия Николаевича на диссертационную работу Карлова Дмитрия Сергеевича «Моделирование полной структуры ионотропных глутаматных рецепторов и дизайн их лигандов», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.16 – медицинская химия и 02.00.03 – органическая химия

В функционировании нервной системы участвует огромное количество белков, но, несомненно, важнейшими являются ионные каналы и рецепторы нейротрансмиттеров. Наиболее распространенным возбуждающим нейротрансмиттером в нервной системе позвоночных является глутамат. Ионотропные глутаматные рецепторы играют существенную роль как в функционировании нервной системы в норме, так и в развитии целого ряда патологических состояний, включая нейродегенеративные заболевания, травмы мозга, депрессии и тревожные расстройства. Эффекторы этих рецепторов, в частности положительные и отрицательные аллостерические модуляторы, рассматриваются в качестве перспективных лекарственных средств. Следует отметить, что жесткая регуляция глутаматергической системы с использованием конкурентных агонистов или антагонистов не приводит, как правило, к желаемым результатам, создавая при этом массу нежелательных побочных эффектов, таких как изменение сознания, в том числе обусловленных низкой селективностью таких лигандов. Поскольку аллостерические модуляторы глутаматных рецепторов обычно позволяют осуществлять более «тонкое» управление ионным каналом, их разработка является весьма актуальным и перспективным направлением.

Диссертационная работа Карлова Д.С. как раз и посвящена поиску перспективных модуляторов функционирования ионотропных глутаматных рецепторов с использованием молекулярных моделей, как самих рецепторов, так и их комплексов с органическими соединениями различных классов. Целью работы явилось моделирование пространственной структуры некоторых типов ионотропных глутаматных рецепторов и молекулярное конструирование на их основе новых модуляторов этих рецепторов.

Использование методов молекулярного моделирования и конструирования позволяет существенно снизить временные и материальные затраты при разработке лекарственных препаратов, поэтому важность поставленной задачи не вызывает сомнения.

Диссертационную работу Карлова Д.С. можно разделить на три взаимосвязанные части. Первая – это выяснение механизма действия, способов связывания лигандов аминоконцевого домена NMDA-рецептора, локализация взаимодействий, обеспечивающих высокоаффинное связывание лигандов данного типа, проведение виртуального скрининга с целью поиска новых потенциальных отрицательных модуляторов NMDA-рецептора. В результате выполнения данной части работы автором был выяснен механизм действия и селективности исследованных лигандов к рецепторам состава GluN1/GluN2B, произведена классификация лигандов по способу связывания и выявлена особая роль остатка Y109, входящего в субъединицу GluN1. Кроме того, установлены количественные соотношения «структура-активность», согласующиеся с результатами докинга. На основании этих данных автором проведен виртуальный скрининг библиотеки соединений и выявлены наиболее перспективные. Биологические исследования для некоторых из выявленных соединений показали их способность взаимодействовать с участком связывания отрицательных аллостерических модуляторов NMDA-рецептора. Эти соединения представляют собой новый структурный тип отрицательных аллостерических модуляторов, что свидетельствует о несомненной новизне проведенных исследований.

Вторая часть работы посвящена созданию и валидации системы поиска сайтов связывания лигандов. Разработанная автором система с высокой точностью определила положения сайтов связывания на поверхности рецептора таких известных лигандов, как глицин, глутамат, ифенпродил, дихлоркинуреновая кислота. В результате выполнения этой части работы идентифицированы сайты связывания новых отрицательных аллостерических модуляторов.

Последняя часть работы посвящена положительным модуляторам AMPA-рецептора. Следует отметить, что для проявления фармакологически

полезных эффектов данного рецептора важна именно потенциация, так как рецепторы данного типа малопроницаемы для ионов кальция, в то же время активация AMPA-рецепторов способна нейтрализовать физиологические эффекты, вызванные недостаточной активацией NMDA-рецептора, например угнетение синтеза нейротрофического фактора мозга, важного для реализации процессов обучения и памяти. На основе построенных связей пространственная структура лиганда – активность автором была построена фармакофорная гипотеза для положительных аллостерических модуляторов AMPA-рецептора, проведена оценка влияния схемы расчета атомных зарядов на точность прогноза величины pEC_{50} . Автором изучена возможность предсказания pEC_{50} на основании рассчитанных значений свободных энергий связывания модуляторов рецептором. При этом автор отмечает, что учет энтропии не улучшает корреляцию. В результате данных исследований построены модели, обладающие достаточно высокой предсказательной способностью.

Таким образом, цель работы достигнута – построены модели глутаматных рецепторов, с использованием которых осуществлен поиск новых модуляторов. В результате обнаружены модуляторы нового структурного типа.

Самостоятельное значение имеет предваряющий обсуждение собственных результатов детальный литературный обзор, посвященный свойствам глутаматных рецепторов и применению методов молекулярного моделирования для их изучения. Обзор позволяет получить довольно полное представление о современном состоянии исследований в данной области.

Автореферат и опубликованные в ведущих отечественных и зарубежных журналах статьи полностью отражают содержание диссертации.

Вместе с тем, при прочтении работы возникают некоторые вопросы и замечания.

1. Следует отметить, что в работе имеется ряд опечаток и неточностей. Например, рис. 1 обозначен как рис. 4 и на нем не указаны сайты связывания в структуре рецептора. В работе нет ссылки на рис. 19, силовое поле “TRIPOS” в одном месте названо как “TRYPOS”.

Некорректно говорить «степень гомологии», так как гомология является качественной характеристикой, количественной характеристикой является степень идентичности аминокислотных последовательностей.

2. На стр. 23 автор утверждает, что «очевидным является увеличение длины или объема линкера, соединяющего дистальную карбоксильную группу и аминокислотный фрагмент, при разработке конкурентных антагонистов». Не ясно, на чем основан этот вывод.
3. Если в разделе 2.2 проведено объяснение различий взаимодействий ифенпродила с различными доменами, зачем нужно было проводить молекулярную динамику в разделе 2.3.
4. Из ссылки на рис. 6 на стр. 49 не следует основной вклад остатков 100-110 и 130-140 в энергию связывания.
5. На рис. 13 (стр. 52) нет обозначений ни карманов, ни аминокислотных остатков, поэтому наблюдать заполнение карманов очень затруднительно.
6. По данным мутагенеза (Стр. 92) критичными для связывания остатками являются Q801, L705, A752, K779 в GluN2D. В разделе 3.4 указаны лишь остатки R768, R821, E558 GluN2D как участвующие в связывании соединения 58. Таким образом, утверждение, что «найденные сайты связывания согласуются с данными мутагенеза о нахождении области связывания лигандов данных классов» не соответствует приведенным данным.

Тем не менее, приведенные замечания относятся в основном к оформлению работы и не влияют на общий высокий научный уровень исследования, которое, без сомнения, является значимым и вносит существенный вклад в понимание молекулярных механизмов взаимодействия ионотропных глутаматных рецепторов с их модуляторами.

Исходя из вышеизложенного, считаю, что диссертация Карлова Дмитрия Сергеевича на тему: «Моделирование полной структуры ионотропных глутаматных рецепторов и дизайн их лигандов», по актуальности решаемых задач и совокупности полученных научных

результатов, научной новизне основных положений и выводов, свидетельствующих о личном вкладе автора, имеет большое значение для расширения фундаментальных знаний в области медицинской и органической химии. Диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор – Карлов Дмитрий Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.16 – медицинская химия и 02.00.03 – органическая химия.

Уткин Юрий Николаевич,
д.х.н., профессор,
ФГБУН «Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова»
зав. лабораторией
молекулярной токсикологии
117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10
Тел.: +7 (495) 336-65-22
Эл. почта: utkin@ibch.ru

«Подпись Ю.Н.Уткина заверяю»



Ученый секретарь ИБХ РАН

д.ф.-м.н. В.А.Олейников

В диссертационный совет
Д 501.001.69 по химическим наукам
при МГУ имени М.В. Ломоносова

Я, Уткин Юрий Николаевич, д.х.н., профессор, ФГБУН «Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова», зав. лабораторией молекулярной токсикологии даю свое согласие выступить в качестве официального оппонента по диссертации Карлова Дмитрия Сергеевича на тему «Моделирование структуры ионотропных глутаматных рецепторов и дизайн их лигандов» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.16 – медицинская химия и 02.00.03 – органическая химия.

По теме рассматриваемой диссертации имею достаточное число публикаций в рецензируемых научных изданиях, в частности:

1. Lyukmanova E.N., Shenkarev Z.O., Shulepko M.A., Paramonov A.S., Chugunov A.O., Janickova H., Dolejsi E., Dolezal V., Utkin Y.N., Tsetlin V.I., Arseniev A.S., Efremov R.G., Dolgikh D.A., Kirpichnikov M.P. (2015). Structural Insight into Specificity of Interactions between Nonconventional Three-finger Weak Toxin from *Naja kaouthia* (WTX) and Muscarinic Acetylcholine Receptors. *J. Biol. Chem.* 290 (39), 23616–30.

2. Utkin Y.N., Weise C., Kasheverov I.E., Andreeva T.V., Kryukova E.V., Zhmak M.N., Starkov V.G., Hoang N.A., Bertrand D., Ramerstorfer J., Sieghart W., Thompson A.J., Lummis S.C., Tsetlin V.I. (2012). Azemiopsin from *Azemiops feae* viper venom, a novel polypeptide ligand of nicotinic acetylcholine receptor. *J. Biol. Chem.* 287 (32), 27079–86.

3. Alama A., Bruzzo C., Cavalieri Z., Forlani A., Utkin Y., Casciano I., Romani M. (2011). Inhibition of the nicotinic acetylcholine receptors by cobra venom α -neurotoxins: is there a perspective in lung cancer treatment? *PLoS ONE* 6 (6), e20695.

Не являюсь членом экспертного совета ВАКа.

Дата

Подпись

личную подпись:

УДОСТОВЕРЯЮ

04.04.20162

