



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Российской академии наук

Отзыв на автореферат диссертации

Дуевой Евгении Владимировны

«Разработка низкомолекулярных ингибиторов репродукции
переносимых клещами флавивирусов»,
представленной на соискание учёной степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.16 — Медицинская химия.

Работа Дуевой Евгении Владимировны посвящена важному вопросу медицинской химии — разработке (поиску) прототипов лекарственных веществ, обладающих противовирусными свойствами. Центральным объектом исследований являются флавивирусы, переносимые клещами, поскольку в России они представляют существенную угрозу здоровью заметных масс населения. В первую очередь, в работе идет речь про вирусы клещевого энцефалита (ВКЭ) и Повассан (ПОВ). Эти вирусы имеют схожий механизм репродукции, важной частью которого является слияние мембран вируса и клетки, причем в этом процессе ключевую роль играет белок Е капсида вируса.

В работе показано, что распространение таких вирусов можно остановить, если воздействовать на них на раннем этапе (до инфекции клетки) низкомолекулярными веществами, связывающимися с гидрофобными сайтами на поверхности белка Е, что приводит к изменению конформационного потенциала этого белка и, по-видимому, лишает его способности вызывать слияние вирусной и клеточной мембран.

Работа Евгении состоит из двух крупных блоков — теоретического и экспериментального. В первом проведено моделирование на основании гомологии оболочечных белков Е двух вирусов и произведен *in silico*-скрининг, основанный на молекулярном докинге, возможных ингибиторов конформационных перестроек этого белка (они же — ингибиторы вирусной репродукции). Также методом молекулярной динамики показан возможный механизм действия этих веществ: связывание с белком Е и затруднение его конформационной перестройки, необходимой для «вскрытия» клеточной мембраны. В экспериментальном блоке проведена *in vitro*-проверка найденных молекул, принадлежащих к нескольким химическим классам, на цитотоксичность и эффективность ингибирования вирусной репликации. Идентифицированные молекулы являются потенциальными противовирусными препаратами.

Автореферат хорошо оформлен и грамотно написан, претензий не вызывает. Опубликованные материалы тоже соответствуют требованиям «качества» кандидатских диссертаций — в наличии три международные статьи в журналах с импакт-факторами 1.5 и ≈ 3.5 , а также ряд тезисов российских и международных конференций.

В то же время, к работе есть ряд замечаний, связанных, в первую очередь, с методикой проведения компьютерных экспериментов, хотя осуществленная в работе успешная экспериментальная проверка, по большому счету, сводит значимость этих претензий к нулю:

1. Нигде не объясняется, почему для скрининга на ВКЭ и ПОВ выбраны библиотеки ХимЭкс и «1,6-производных 4-фторпиримидин-N-оксидов». При скрининге это один из самых важных моментов, потому что если в исходной библиотеке активных молекул нет, то и в результате сканирования они не появятся. Очевидно, у автора были основания выбрать именно такие библиотеки — но о них скромно умолчано.
2. Глава 2 начинается с докинга химической библиотеки в модель sE вируса ПОВ, но дальше почему-то много говорится о проверке активности и на ВКЭ тоже. В частности, наиболее

активные молекулы были найдены именно по отношению к ВКЭ, хотя начинали поиск с ПОВ. Тут есть какая-то неувязка, которая никак не комментируется в тексте автореферата.

3. Моделирование молекулярной динамики (МД) в течение 30 нс представляется совершенно недостаточным для сделанных выводов о доменной подвижности белка sE в зависимости от связывания им молекулы-ингибитора репликации вируса. К тому же, не ясно, почему выбрали неявно заданный растворитель, ведь стандартом в современных протоколах МД является *явно* заданный сольвент. Малое время расчетов и отсутствие повторных траекторий МД заставляют усомниться в статистической значимости описываемого эффекта — «изгибания» белка sE, которое должно приводить к нарушению слияния вирусной и клеточной мембран. Ну и наконец, ничего о механизме слияния собственно мембран в работе не сказано.
В любом случае, этот вопрос можно назвать лишь затронутым, но не подробно изученным в рамках этой диссертации. Качественно более совершенным такое исследование сделал бы анализ характерных внутренних движений в белке, основанный на матрицах ковариации подвижности, а также грамотный статистический анализ. Ну и увеличение статистики МД.
4. Во фразе «Связывание молекулы ингибитора, по-видимому, может снизить энергию этого конформационного перехода, таким образом предотвращая слияние», кажется, есть логическая неувязка, ну или она, по крайней мере, неудачно построена. Ожидается, что снижение энергетического барьера ускорит какой-то процесс, а не затормозит его.
5. В главе 4 для производных 4-аминотетрагидрохиназолина проводится достаточно подробный, но, впрочем, «кустарный» анализ структура–активность. Не ясно, почему автор не использовала более четкую и стандартную QSAR-методику, а также не провела подобный анализ для первых двух серий ингибиторов.
6. Опечатка: «Препарат для лечения клещевого энцефалита должен не ингибировать...»
7. В рис. 1 перепутаны панели Д и Е.

Впрочем, как я уже сказал, проделанная экспериментальная проверка результатов полностью «искупает» эти недостатки, и хочется надеяться, что найденные молекулы продолжат свое существование уже как лекарственные прототипы в клинических испытаниях. Несомненно, проделанная работа удовлетворяет требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, а ее автор — Диева Евгения Владимировна — заслуживает присвоения ей искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.16 — «Медицинская химия».

11 ноября 2016 г.

с.н.с. Лаборатории моделирования биомолекулярных систем
Института биоорганической химии РАН, к.ф.-м.н.

Адрес: 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Е-мейл: batch2k@yandex.ru

Телефон: +7-495-336-20-00.



А.О. Чугунов