

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук

Фоминой Анастасии Дмитриевны

на тему: «**Систематический ансамблевый докинг потенциальных лигандов**

главной протеазы SARS-CoV-2 и белка NS1 флавивирусов»

по специальности 1.4.16. Медицинская химия

Актуальность работы. Молекулярный докинг – классический метод структурного моделирования в дизайне биологически активных веществ. В рамках ансамблевого подхода докинг производят в набор структур одной и той же мишени. Таким образом моделируется конформационная подвижность белка, что способствует повышению селективности и эффективности выявления биологически активных соединений на этапе виртуального скрининга. Практическая значимость ансамблевого докинга обусловлена его меньшей требовательностью к вычислительным ресурсам по сравнению с другими существующими методами. Это позволяет обрабатывать большие наборы данных. Современный этап развития структурной биологии, стимулированный глобальными вызовами пандемии COVID-19, характеризуется значительным приростом экспериментальных данных о трехмерных структурах вирусных белков. Это создает предпосылки для внедрения и совершенствования методологии ансамблевого докинга с целью повышения эффективности виртуального скрининга. Кроме того, разработка противовирусных лекарственных средств является актуальной задачей медицинской химии в связи с постоянной угрозой появления новых и модифицированных инфекций, резистивностью вирусов к существующим препаратам и отсутствием или невозможностью повсеместного применения вакцин.

Цель работы Фоминой А.Д. заключается в разработке автоматизированной процедуры виртуального скрининга методом ансамблевого докинга, основанной на стандартизированных подходах к отбору структур белковой мишени, генерации и обработке результатов докинга и ретроспективной валидации прогностической способности модели для применения в поиске потенциальных лигандов вирусных белков — главной протеазы SARS-CoV-2 и белка NS1 ортофлавивирусов.

Диссертационная работа Фоминой А.Д. изложена на 200 страницах и состоит из введения, 7 глав, содержащих обзор литературы, основные методы исследования, результаты и их обсуждение, заключения, списка литературы, включающего 275 наименований, и 6 приложений; содержит 20 таблиц и 86 рисунков, а также 6 таблиц и 17 рисунков в приложениях.

Во введении автор кратко характеризует актуальность работы, ее новизну, теоретическую и практическую значимость, формулирует цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы состоит из трех разделов и посвящен вычислительным и биологическим аспектам виртуального скрининга противовирусных лекарственных средств. В первой части рассмотрены и проиллюстрированы примерами особенности применения метода ансамблевого докинга. Подробно описаны различные приемы составления ансамблей белковых структур и консенсусной оценки результатов докинга. Информация собрана и изложена полно и позволяет составить представление о степени описания темы и актуальности ее дальнейшего развития. Вторая часть посвящена дизайну лекарственных средств – ингибиторов главной протеазы COV. Подробно описаны биологические и структурные основы этого процесса, а также существующие разработки в области ковалентных и нековалентных ингибиторов. При этом акцент сделан на работах, использующих методы вычислительной химии. Третья часть построена сходным образом и освещает актуальность и предпосылки для разработки ортофлавивирусных лекарственных средств, в частности — потенциальных лигандов белка NS1. Литературный обзор соответствует тематике диссертационной работы и достаточно полно отражает современное состояние области исследования.

Материалы и методы исследования, его результаты и их обсуждение представлены в следующих шести главах, собранных по логически-связанным подтемам. Первая из этих содержательных глав посвящена разработке метода составления ансамбля белковых структур, отражающего разнообразие конформаций аминокислотных остатков активного центра на основании попарного

среднеквадратичного отклонения координат тяжелых атомов. Проведено сравнение предложенного метода с другими существующими методами составления ансамблей.

Для оценки качества виртуального скрининга автором была подготовлена библиотека низкомолекулярных соединений, для которых в научной литературе опубликованы результаты определения активности в отношении главной протеазы бета-коронавирусов. Проведено сравнение химического пространства этой библиотеки с химическим пространством других опубликованных аналогичных библиотек. Автором получено свидетельство о регистрации составленной базы данных, что свидетельствует о практической значимости этого раздела диссертации.

Описанные библиотеки использованы для валидации процедуры виртуального скрининга методом ансамблевого докинга потенциальных ингибиторов главной протеазы SARS-CoV-2. Применимость метода составления ансамбля и возможность его использования для виртуального скрининга потенциальных лигандов других мишеней продемонстрирована на примере циклин-зависимой киназы-2. Также в этой главе изложены результаты анализа взаимодействий лигандов главной протеазы на основании кристаллографических данных, которые имеют значительную теоретическую значимость, хотя автором показана ограниченная применимость структурных ограничений в рамках разработанной процедуры.

Разработанная методика была успешно применена автором для поиска новых хемотипов ингибиторов главной протеазы SARS-CoV-2. В результате виртуального скрининга и последующей экспериментальной валидации был обнаружен новый класс потенциальных ингибиторов — замещенные тиенопиримидиноны. Активность соединений в отношении главной протеазы невелика, порядка 20 мкМ, но автором проведен анализ структура-активность для расширенной серии, на основании чего разработана стратегия выявления потенциально более активных аналогов и предложена структурно-ориентированная библиотека для последующих экспериментальных исследований.

В следующей главе автор продолжает использовать доступность значительного количества данных о главной протеазе SARS-CoV-2, применяя результаты высокопроизводительного скрининга известных лекарств и подобранные ранее

библиотеки для построения классификационных моделей машинного обучения. Информация о способе связывания лигандов с белком представлена в модели в виде фингерпринтов взаимодействия, и показано, что при наличии большого количества примеров специфических взаимодействий в обучающей выборке фингерпринты взаимодействия позволяют добиться более высокой точности классификации по сравнению с моделями, содержащими информацию только о структуре лиганда. Важным теоретическим аспектом проведенной работы является интерпретация анализа вкладов признаков в прогнозы моделей. Фактически, рассмотрение в моделировании необходимого и достаточного количества комплексов лиганд-мишень с формулированием модели как химического пространства с наибольшей плотностью вероятности нахождения лигандов вокруг мишени – это универсальная основа для построения связи структура-активность в области любых несвязывающих взаимодействий ближнего порядка, например, в катализе.

В финальной главе разработанная методика адаптирована и применена для поиска потенциальных лигандов белка NS1 ортофлавивирусов. Эта мишень очень отличается от рассмотренных автором ранее как в функциональном смысле, так и по доступности информации о ее структуре и связывании с ней малых молекул, поэтому Фоминой А.Д. была проведена значительная работа по анализу потенциальных сайтов связывания низкомолекулярных соединений. Материалом для составления ансамбля были смоделированные по гомологии структуры белка NS1 различных ортофлавивирусов. Автором убедительно показана необходимость разделения белков вирусов, переносимых комарами и клещами, при построении ансамбля и предложен альтернативный способ составления ансамблей на основании корреляции рангов результатов докинга в индивидуальные структуры. Практическим результатом работы стали две фармакофорные модели, полученные на основании анализа частотности взаимодействий, а также библиотека соединений для экспериментального скрининга.

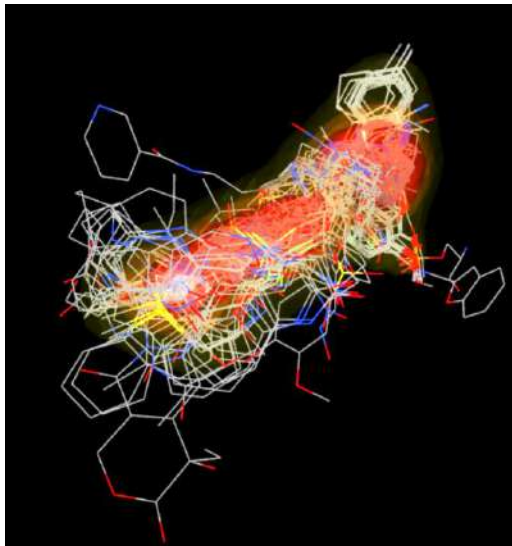
Заключение диссертации всесторонне и чётко отражает ключевые достижения автора. Представленные в нём выводы являются обоснованными, логично вытекают из поставленных целей и задач, а также опираются на собственные расчетные данные автора. В приложениях представлены данные и иллюстрации, способствующие более

полной репрезентации результатов, а также приведен программный код, что отвечает принципу воспроизводимости результатов исследований. Надёжность и достоверность полученных результатов подтверждаются применением надежных, статистически обоснованных алгоритмов и специализированного программного обеспечения. Изложенные материалы **подтверждают достоверность положений, выносимых на защиту**. Автор демонстрирует высокий профессионализм и владение современными методами медицинской химии, что свидетельствует о серьёзном и ответственном подходе к выполнению исследования. Библиографический список актуален и соответствует тематике диссертации, а также корректно оформлен.

Научная новизна работы состоит в:

- Разработке методики систематического составления ансамблей белковых структур, отражающей конформационное разнообразие аминокислотных остатков активного центра;
- Компоновке базы данных соединений с экспериментально определенной активностью, дополняющей существующее аннотированное химическое пространство, в отношении главной протеазы SARS-CoV-2;
- Выявлении нового класса ингибиторов главной протеазы SARS-CoV-2 – замещенных тиено[3,2-*d*]пиримидинонов;
- Применении фингерпринтов взаимодействия в классификационных моделях машинного обучения, построенных на данных об активности различных соединений в отношении главной протеазы SARS-CoV-2, демонстрации преимущества таких моделей над моделями, содержащими только информацию о структуре низкомолекулярных соединений;
- Разностороннем исследовании аспектов применения белка NS1 ортофлавириусов для виртуального скрининга потенциальных противовирусных препаратов, в частности, поиске потенциальных сайтов связывания низкомолекулярных соединений и демонстрации важности разделения при составлении ансамблей структур белков вирусов, переносимых комарами и клещами.
- Автором данного отзыва проведена некоторая работа по анализу полученных в рецензируемой диссертационной работе данных по ансамблевому моделированию на

COV-19 (называю это нейросетью с отсечением генерированной структурной модели на 75%-ной вероятности нахождения лиганда на первичной протеазе COV-19). Использованы примерно те же базы данных и лиганды. В графическом виде это выглядит примерно так (сплошная заливка – плотность вероятности лигандов 75%):



Данный контрольный результат позволяет сказать, что отбор комплексов обучающей выборки в диссертационной работе А.Д.Фоминой существенно лучше автоматического определения весов и структур элементов обучающей выборки из баз данных (описанной нами в <https://doi.org/10.71267/mencom.7710>).

Теоретическая и практическая значимость работы не вызывает сомнений и дополнительно подтверждается получением автором свидетельств о государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ и в Реестре баз данных.

Результаты исследования изложены в 3 статьях в рецензируемых журналах, которые рекомендованы для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В.Ломоносова, а также они представлены на российских и международных научных конференциях.

По работе может быть сделано несколько незначительных замечаний:

1) В разделе, посвященном разработке моделей машинного обучения по связыванию лиганда с мишенью, использованы только два типа фингерпринтов взаимодействия, один из которых разработан автором на основании существующих решений, а второй является общепринятым, но относительно устаревшим. Можно

было бы использовать другие описанные в литературе методы векторизации комплексов белков с низкомолекулярными соединениями, например, модели множественного комплексообразования по полной поверхности белка. В этом случае можно было бы более эффективно связать вторичную активность лиганда в разработанных автором моделях ингибиторов CDK и COV-семейств.

2) В достаточно большом количестве исследуемых прогнозных структур присутствуют атомы двухвалентной серы. Это может добавлять в систему силовых полей упомянутое в тексте диссертации ковалентное связывание, существенно меняющее модель по сравнению с чистым π -связыванием в любых системах докинга.

3) В работе применяется терминология, не всегда совпадающая с общепринятой, и это затрудняет сравнение с другими исследованиями по теме; но это наблюдается во всех работах по дизайну биологически активных структур.

4) Конечно, как и в любом теоретическом исследовании, хотелось бы увидеть практическую валидацию сгенерированной модели в направленном синтезе – но это бы существенно превышало объем и задачи рецензируемой работы.

Вместе с тем, указанные замечания не носят принципиального характера и не меняют положительного впечатления о диссертационном исследовании.

Диссертация Фоминой Анастасии Дмитриевны является законченной научно-квалификационной работой, а задачи, связанные с проблемой составления ансамблей белковых структур для виртуального скрининга и поиском противовирусных лекарственных средств, которые были решены в ходе проводимого исследования, несомненно, имеют важное значение для развития медицинской химии.

Диссертация «Систематический ансамблевый докинг потенциальных лигандов главной протеазы SARS-CoV-2 и белка NS1 флавивирусов» Фоминой Анастасии Дмитриевны отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.4.16. Медицинская химия (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о

присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Фомина Анастасия Дмитриевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16. Медицинская химия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук, заведующий лабораторией молекулярного моделирования и направленного синтеза (№ 44) Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН)

Свитанько Игорь Валентинович

09.10.2025

Контактные данные:

Рабочий тел.: +7 (499) 137-87-09; рабочий e-mail: svitanko@ioc.ac.ru,

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 02.00.03 –Органическая химия.

Адрес места работы: 119991, г. Москва, Ленинский проспект, дом 47; ФГБУН Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук, лаборатория молекулярного моделирования и направленного синтеза.

Тел. +7 (499) 137-87-09; e-mail: svitanko@ioc.ac.ru

Подпись зав. лаб. ИОХ РАН, д.х.н. Свитанько И.В. удостоверяю

Ученый секретарь ИОХ РАН,

К.Х.Н.

И.К. Коршевец