ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Васюченко Екатерины Павловны
на тему: «Исследование молекулярных механизмов антимикробного действия метиленового синего методами компьютерного моделирования»
по специальности 1.5.2. Биофизика

Диссертация Екатерины Павловны Васюченко посвящена исследованию молекулярных механизмов антимикробного и противовирусного действия метиленового синего методами компьютерного моделирования. Работа выполнена на современном научно-методическом уровне и относится к актуальному направлению междисциплинарных исследований, находящемуся на стыке биофизики, молекулярной биологии и вирусологии.

Актуальность темы исследования не вызывает сомнений. Проблема поиска эффективных антивирусных и антимикробных средств сохраняет чрезвычайную значимость в контексте эпидемиологических вызовов последнего десятилетия. Метиленовый синий, обладающий широким спектром биологической активности, используется в медицинской практике уже более века, однако молекулярные механизмы его действия до настоящего времени остаются недостаточно изученными. Объединение различных методов молекулярного моделирования, включая броуновскую и молекулярную динамику, является современным и перспективным подходом для анализа взаимодействий малых молекул с биомолекулярными структурами. Традиционные исследования зачастую ограничиваются изучением изолированных вирусных белков, что не учитывает реальный структурный контекст вирусной оболочки, включая взаимное влияние мембранных и белковых компонентов, формирование сложного гетерогенного электростатического поля на поверхности вириона и стерические эффекты. Применение молекулярных моделей целых оболочек вирусов в совокупности с броуновской динамикой может показать картину начальных стадий взаимодействия низкомолекулярных соединений с вирусной частицей в целом, что открывает новые возможности для целенаправленного поиска противовирусных агентов и идентификации их мишеней.

Текст диссертационного исследования построен по классической схеме, и включает в себя введение, обзор литературы, материалы и методы, две главы, посвящённые результатам диссертационного исследования, а также заключение и выводы. Обзор литературы в диссертации выполнен на высоком научном уровне и представляет собой исчерпывающий, логично структурированный анализ современного состояния проблемы, охватывающий как фундаментальные аспекты — физико-химические свойства метиленового синего, строение и жизненные циклы оболочечных вирусов (коронавирусов и флавивирусов), — так и детальный разбор методов компьютерного моделирования (молекулярный докинг, молекулярная и броуновская динамика, методы зонтичной выборки). Критический анализ литературных данных не ограничивается простым перечислением фактов, а выявляет конкретные пробелы в знаниях, такие как отсутствие исследований взаимодействия лигандов с целостными вирусными оболочками и неясность механизмов «темновой» противовирусной активности метиленового синего, что формирует четкое концептуальное обоснование и актуальность проводимого автором исследования.

На основании анализа диссертации можно заключить, что **степень обоснованности положений**, выносимых на защиту, научных выводов и рекомендаций является достаточно высокой. Использование взаимодополняющих подходов — броуновской динамики для анализа начальных стадий взаимодействия в масштабе целого вириона и молекулярной динамики с зонтичным отбором проб для исследования энергетики процессов в атомарном разрешении — обеспечило формирование целостной картины. Достоверность представленных результатов подтверждается корректным выбором методов исследования, адекватностью математических моделей поставленным задачам, воспроизводимостью вычислительных экспериментов и соответствием полученных данных литературным источникам и известным экспериментальным фактам. Автор демонстрирует глубокое понимание принципов молекулярной и броуновской динамики, а также уверенное владение инструментарием современных вычислительных методов. Полученные данные

коррелируют с известными экспериментальными фактами, такими как потеря S-белков при фотодинамической инактивации, что дополнительно подтверждает достоверность выводов.

Научная новизна работы не вызывает сомнений и заключается в применении полномасштабной модели оболочки SARS-CoV-2 для изучения взаимодействия с метиленовым синим. Проведен расчет энергетического профиля прохождения молекулы через виропорин, а также сделан сравнительный анализ электростатических взаимодействий с оболочками флавивирусов. Выводы о ключевой роли электростатических взаимодействий и π-π-стэкинга в связывании, а также о виропорине как о потенциальной мишени, имеют вполне конкретное практическое применение. Сформулированные рекомендации по перспективам использования метиленового синего и направленному дизайну новых соединений логично вытекают из полученных результатов и задают чёткую программу для дальнейших экспериментальных и теоретических исследований.

Практическая значимость работы определяется тем, что предложенный подход может быть использован для скрининга и оптимизации соединений с противовирусной активностью, а также для изучения механизмов их действия на уровне молекулярных взаимодействий. Полученные результаты могут найти применение при разработке новых лекарственных средств, направленных на ингибирование вирусных белков и нарушающих процессы слияния мембран. Кроме того, методические подходы, реализованные автором, могут быть использованы в смежных областях биофизики и молекулярного моделирования биосистем.

Диссертационная работа отличается логичной структурой, ясным изложением материала. Автором выполнен значительный объем самостоятельных исследований, результаты которых опубликованы в отечественных и международных рецензируемых изданиях, в том числе в журналах, индексируемых в базе данных ядра Российского индекса научного цитирования "eLibrary Science Index".

Несмотря на в целом высокий уровень исследования, диссертация содержит ряд вопросов и замечаний, имеющих в основном дискуссионный характер:

1. В работе показано статическое распределение электростатического потенциала вокруг белков оболочек; целесообразно было бы рассмотреть его изменение при различных конформациях белков.
2. Методы броуновской динамики не учитывают конформационной подвижности белков. В связи с этим, следовало бы уделить больше внимания обсуждению ограничений в интерпретации результатов.
3. В разделе, посвящённом моделированию взаимодействия метиленового синего с виропорином, полезно было бы подробнее обосновать выбор состава мембраны и проверить корректность выводов в зависимости от изменения липидного состава мембраны.
4. Относительно метода зонтичного отбора проб, полезно было бы включить более подробные данные по оценке корректности результатов PMF, а именно пересечение гистограмм значений между окнами.
5. В работе основное внимание уделено электростатическим и стэкинг-взаимодействиям. Вклад сольватации и энтропийных факторов в свободную энергию связывания мог бы быть предметом более детального анализа в будущем.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования и имеют дискуссионный характер. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.2. Биофизика (по биологическим 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 Васюченко Екатерина Павловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Официальный оппонент:

Доктор физико-математических наук
Ведущий научный сотрудник лаборатории нейтронной физики имени И.М. Франка
Международная межправительственная научно-исследовательская организация «Объединенный институт ядерных исследований»

Холмуродов Холмирзо Тагойкулович

19.11.2025

Контактные данные:

тел.: + e-mail: mirzo@jinr.ru
Специальности, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 05.13.16 – применение вычислительной техники, математического моделирования и математических методов в научных исследованиях; 01.04.07 – физика твёрдого тела

Адрес места работы:

141980, Московская обл., г. Дубна, ул. Жолио-Кюри, 6,
Международная межправительственная научно-исследовательская организация «Объединенный институт ядерных исследований», лаборатория нейтронной физики имени И.М. Франка. Тел.: +7 (496) 216-24-28; e-mail: lychag(at)nf.jinr.ru

Подпись Холмуродова Холмирзо Тагойкуло
Ученый секретарь Лаборатории нейтронной
физики им И.М.Франка Объединенного
института ядерных исследований О. Незванов 19. 11. 2025

Лаборатория нейтронной физики имени И.М. Франка, ОИЯИ,
ул. Жолио-Кюри 6, г. Дубна, Московская обл., Россия, 141980
e-mail: scientific_secretary@nf.jinr.ru, тел.: +7 (49621) 6-50-96