

**ОТЗЫВ официального оппонента  
на диссертацию на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук Андрианова Григория Васильевича  
на тему: «Разработка новых биоинформатических подходов для подбора ингибиторов  
киназной активности»  
по специальности 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика**

Протеинкиназы представляют собой большое семейство ферментов, осуществляющих фосфорилирование белков и тем самым контролирующих фундаментальные аспекты жизнедеятельности клетки, от передачи сигналов до клеточного деления и метаболизма. Нарушение их функции лежит в основе развития множества заболеваний, что делает киназы одними из наиболее востребованных терапевтических мишеней. Создание высокоэффективных и безопасных ингибиторов киназной активности сопряжено со значительными трудностями. Ключевой проблемой является высокая степень консервативности АТФ-связывающего сайта, что часто приводит к недостаточной селективности препаратов и, как следствие, к развитию нежелательных побочных эффектов. В связи с этим особую значимость приобретают вычислительные методы разработки лекарственных средств, позволяющих рационализировать и ускорить процесс поиска новых потенциальных кандидатов. Однако классические подходы виртуального скрининга сталкиваются с ограничениями, связанными как с колоссальным размером исследуемого химического пространства, так и с недостаточной точностью предсказательных моделей. Преодоление этих барьеров требует разработки и внедрения новых вычислительных стратегий. В этой связи диссертационная работа Андрианова Г.В., посвященная разработке новых вычислительных подходов для подбора ингибиторов киназной активности, является актуальной и важной.

Диссертационная работа построена по традиционной схеме и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты и их обсуждение, выводы и список цитированной литературы. Работа изложена на 116 страницах, содержит 152 источника в библиографии, 5 приложений, а также иллюстрирована 23 рисунками и 5 таблицами.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы, после чего формулирует цели и задачи, которые определяют логику исследования и находят полное отражение в содержании работы. Далее автор последовательно раскрывает степень изученности проблемы, научную новизну, а также теоретическую и практическую значимость полученных результатов. Также введение включает описание методологии исследования, оценку достоверности данных, характеристику личного вклада автора,

перечень положений, выносимых на защиту, и список публикаций автора по теме диссертации.

В обзоре литературы представлен анализ современного состояния исследований в области протеинкиназ и их ингибиторов, демонстрирующий понимание автором предметной области. Автор последовательно раскрывает фундаментальную роль киназ, подчеркивает их значимость как перспективных, но сложных терапевтических мишеней, а также подробно анализирует структурные аспекты их функционирования и механизмов регуляции. Особое внимание уделяется классификации и механизмам действия различных типов ингибиторов, от традиционных АТФ-конкурентных до молекул PROTAC, обеспечивающих направленную деградацию белков. Завершается обзор рассмотрением методов разработки лекарств (таких, как фрагментно-ориентированный дизайн и машинное обучение), которые можно применять для создания новых киназных ингибиторов.

В главе "Материалы и методы исследования" описаны методы, которые были использованы автором для решения поставленных целей и задач диссертационного исследования, а также описано создание тренировочного набора для модели машинного обучения.

В главе "Результаты и обсуждение" автором представлена полная информация о проведенных исследованиях, подтверждаемая достаточным фактическим материалом в виде таблиц и рисунков. Результаты подробно описаны и обработаны с помощью корректно выбранных методов статистического анализа. Глава разделена на четыре подраздела.

Первый подраздел посвящен разработке и оценке эффективности нового фрагментно-ориентированного метода для поиска ингибиторов протеинкиназ. Метод основан на декомпозиции известных активных соединений на структурные фрагменты с учетом их пространственного расположения в активном центре мишени. Для каждого фрагмента формируется специализированная библиотека при помощи схемы синтеза исходного соединения и коммерчески доступных строительных блоков, после чего выполняется их скрининг на взаимодействие с исследуемой мишенью. Ключевую роль в методе играет принцип аддитивности энергий взаимодействия, согласно которому энергия связывания полноразмерного соединения с мишенью может быть представлена как сумма энергий взаимодействия его составляющих фрагментов. Вместо ресурсоемких расчетов для каждой комбинации фрагментов, оценка проводится лишь для значительно меньшего набора составляющих фрагментов, что делает возможным анализ огромных химических коллекций за приемлемое время. Точность предсказаний и эффективность разработанного

метода была продемонстрирована на примере шести известных киназных ингибиторов. Реконструированные полноразмерные структуры, полученные путем объединения соответствующих фрагментов, показали значительное сходство с кристаллическими структурами исходных соединений. Проведенный анализ подтвердил применимость принципа аддитивности для оценки сродства и селективности в системах, состоящих из двух фрагментов. В то же время при использовании для соединений с тремя оптимизируемыми группами точность предсказаний заметно снижалась. В завершающей части была продемонстрирована эффективность метода обнаружения известных активных соединений в сгенерированных масштабных библиотеках. Эксперимент показал значительное преимущество перед случайным перебором в идентификации биологически активных соединений, что подтверждает практическую значимость предложенного подхода для ускоренной разработки лекарственных средств.

Во втором подразделе представлены результаты моделирования структуры тройного комплекса мишень-PROTAC-убиквитинлигаза E3 и оценки их совместимости с помощью разработанной метрики доли совместимых комплексов (ДСК). Практическая значимость метода подтверждается установленной корреляцией между значениями ДСК и эффективностью деградации, что позволяет применять его для сравнительной оценки новых молекул PROTAC. Это продемонстрировано на примере анализа влияния длины линкера для Brd4<sup>BD1</sup>/CRBN, а также в задачах предсказания селективности действия PROTAC, направленных на взаимодействие убиквитинлигаз E3 VHL и CRBN с киназами c-Met, EphA2, STK10.

В третьем подразделе автор описывает поиск новых ингибиторов CDK2 и CDK9 с использованием традиционного подхода виртуального скрининга, основанного на поиске по молекулярному подобию. Для экспериментальной валидации были отобраны 22 соединения. Полученные результаты демонстрируют ограниченную прогностическую способность данного метода - только 10 из них показали активность с IC<sub>50</sub> лучше 100 мкМ, и лишь одно соединение обладало активностью в субмикромольном диапазоне.

В заключительном подразделе автор демонстрирует потенциал усовершенствованной модели машинного обучения vScreenML для повышения точности предсказаний и снижения доли ложноположительных результатов в виртуальном скрининге. Подробно описан процесс обновления модели, включающий формирование нового тренировочного набора, а также отбор наиболее информативных дескрипторов из исходного набора признаков. Обновленная версия vScreenML продемонстрировала высокую предсказательную способность и убедительную конкурентоспособность по сравнению с лучшими из существующих ранее моделей, такими, как AA-Score, AutoDock

Vina и CNNAffinity. Ключевым результатом стало применение vScreenML к ранее отобраным 22 соединениям. Использование усовершенствованной модели позволило повысить точность классификации до 79,5%.

Диссертационная работа представляет собой полноценное исследование, выполненное на должном уровне, и имеет существенное теоретическое и практическое значение для дальнейших исследований в данной области, расширяя инструментарий и методологию для целенаправленного поиска и оптимизации ингибиторов протеинкиназ. Она предлагает новый подход к анализу масштабных химических библиотек через фрагментно-ориентированный дизайн, открывает возможности для рационального дизайна новых молекул PROTAC и улучшает виртуальный скрининг за счет внедрения методов машинного обучения.

Научная новизна полученных данных не вызывает сомнений. Автором 1) разработан новый вычислительно-эффективный метод поиска ингибиторов протеинкиназ, который совмещает подходы фрагментно-ориентированной разработки лекарств и комбинаторной химии, что позволяет анализировать многомиллионные библиотеки соединений в короткие сроки; 2) предложен новый метод для моделирования трехмерной структуры тройного комплекса мишень-PROTAC-лигаза E3 и разработана метрика для оценки совместимости компонентов этого комплекса; 3) усовершенствован вычислительный метод vScreenML, предназначенный для сокращения количества ложноположительных предсказаний, получаемых при использовании традиционных методов виртуального скрининга.

Диссертация и автореферат структурированы и оформлены согласно требованиям нормативных документов. Содержание автореферата в полной мере отражает основные аспекты диссертационной работы. Цель, задачи, положения, выносимые на защиту и выводы, приведенные в автореферате, соответствуют таковым в диссертации.

Работа прошла необходимую апробацию. Ключевые положения диссертации опубликованы в 4 статьях в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК и индексируемых в базах РИНЦ, Scopus и Web of Science, 3 из которых опубликованы в журналах WoS с квартилем Q1 и Q2. Материалы работы успешно представлены на международных научных конференциях.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. Работа содержит незначительное количество опечаток. На основе анализа представленной диссертации можно сформулировать следующие вопросы:

- Разработанный фрагментно-ориентированный метод основывается на предположении об аддитивности энергий взаимодействия отдельных фрагментов.

Однако, как показано автором, предсказание энергии взаимодействия полноразмерных соединений на основе его отдельных фрагментов в некоторых случаях может сопровождаться существенными отклонениями. Насколько оправдано применение этого допущения при анализе миллиардных библиотек ранее неизученных соединений? Не приводит ли оно к систематическому смещению в сторону молекул, для которых аддитивность реализуется случайно, с одновременным исключением потенциально активных, но неаддитивных кандидатов?

- Также фрагментно-ориентированный метод использует минимизацию модели в PyRosetta, который допускает некоторую гибкость белковой структуры в ходе работы. Наблюдались ли значительные конформационные изменения мишени при минимизации разных фрагментов, и как это учитывалось при слиянии?
- В работе утверждается, что использование известных схем синтеза вместе с коммерчески доступными строительными блоками повышает вероятность синтетической доступности. Проводилась ли какая-либо оценка реальной синтетической сложности предсказанных лучших соединений?
- Возможно ли, что высокие значения ДСК является артефактом, например, когда чрезмерно гибкий линкер позволяет объединять большинство белок-белковых моделей?
- Несмотря на улучшение точности предсказаний при помощи vScreenML, почти четверть предсказаний для CDK9 остаются ложноположительными. Каковы причины остающихся ошибочных предсказаний у vScreenML? Также следует отметить, что текущая связь между моделью машинного обучения и экспериментом носит преимущественно оценочный характер, т.к. vScreenML используется для анализа уже полученных экспериментальных данных. Для убедительной демонстрации значимости модели необходима дополнительная валидация, при которой она применяется для отбора новых кандидатов из масштабных библиотек с последующей экспериментальной проверкой.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.8. «Математическая биология, биоинформатика» (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, а именно, следующим направлениям:

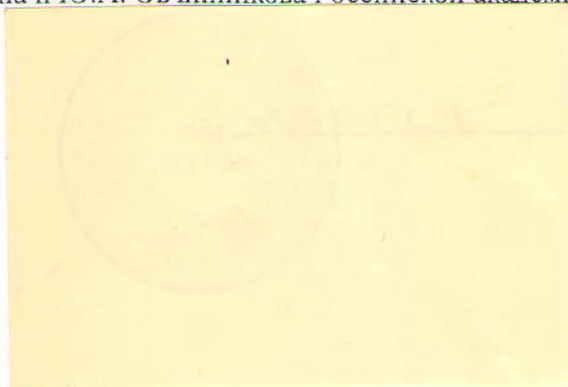
«Компьютерное конструирование лекарств. Анализ взаимосвязей структура-активность», «Математические модели, численные методы, алгоритмы и программные средства применительно к процессам получения, накопления, обработки и систематизации биологических и медицинских данных и знаний», «Разработка и применение методов машинного обучения и искусственного интеллекта для анализа и прогнозирования свойств биологических объектов на основе анализа больших биомедицинских данных». Работа оформлена 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, считаю, что соискатель Андрианов Григорий Васильевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8. «Математическая биология, биоинформатика».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией инженерии белка Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук  
Долгих Дмитрий Александрович

27.05.2025



Контактные данные:

тел.: +7(916)7345093, e-mail: [dolgikh@nmr.ru](mailto:dolgikh@nmr.ru)

Специальность, по которой официальным оппонентом  
защита диссертация: 03.00.03 – Молекулярная биология

Адрес места работы:

117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10

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

Тел.: +7 (495) 335-28-88; e-mail: [dolgikh@nmr.ru](mailto:dolgikh@nmr.ru)