

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

Ансамблевый докинг представляет собой расширение метода классического молекулярного докинга и учитывает конформационную подвижность белка за счет докинга в набор структур вместо одной структуры. Такой подход позволяет обеспечить более высокое обогащение отобранных по результатам виртуального скрининга потенциально активными соединениями и при этом требует меньше вычислительных ресурсов по сравнению с другими способами, учитывающими конформационные изменения мишени. В частности, применение ансамблевого докинга актуально для разработки противовирусных лекарственных средств, что является одним из ключевых направлений в современной медицинской химии. Развитие структурной биологии в последние годы, особенно в период пандемии COVID-19, привело к появлению большого количества информации о структуре вирусных белков, и это делает возможным развитие и наиболее эффективное применение метода ансамблевого докинга. Однако такое количество данных требует системного подхода к выбору ансамбля, что является актуальной задачей исследований.

Цель и задачи работы связаны с разработкой систематического автоматизированного подхода к отбору ансамбля белковых структур и использованием разработанных методик виртуального скрининга для поиска потенциальных лигандов белка NS1 ортофлавивирусов и главной протеазы SARS-CoV-2.

Диссертация Фоминой А.Д. изложена на 200 страницах и состоит из Введения, 7 глав, содержащих обзор литературы, основные методы исследования, результаты и их обсуждение, Заключение, Списка литературы и 5 Приложений; содержит 20 таблиц и 86 рисунков, а также 6 таблиц и 17 рисунков в приложениях. Список литературы включает 275 источников.

Обзор литературы состоит из трех разделов, каждый из которых логически связан с собственным исследованием автора. В первой части рассматриваются аспекты применения ансамблевого докинга в разработке лекарств. На конкретных примерах проиллюстрированы достоинства метода и его ограничения, и показана степень разработанности темы и актуальность ее дальнейшего развития. Во второй и третьей частях описаны биологические основы дизайна противокоронавирусных лекарственных средств с главной протеазой в качестве мишени и лигандов белка NS1 ортофлавивирусов

соответственно, даны примеры существующих лекарств и описаны подходы, использованные в их разработке.

В последующих шести главах изложены результаты собственных исследований Фоминой А.Д. и использованные в работе методы. Поскольку работа связана с разработкой методики систематического ансамблевого докинга, такое нетрадиционное структурирование является обоснованным и способствует ясности изложения материала. На первом этапе работы автором разработана методика составления ансамблей белковых структур на основании попарных среднеквадратичных отклонений координат тяжелых атомов аминокислотных остатков активного центра, проведено сравнение конформационного разнообразия получающихся таким образом ансамблей и ансамблей, составляемых при помощи других методов. Достоинством метода является системный подход к составлению ансамбля, не зависящий от стохастических факторов и субъективной оценки исследователя.

Фоминой А.Д. составлена и аннотирована библиотека соединений с известной активностью в отношении главной протеазы бета-коронавирусов, которая впоследствии использована для оценки ранжирующей способности ансамблей белковых структур. Соединения были собраны вручную из статей и депонированных рукописей, и таким образом удалось создать библиотеку, отличающуюся по составу от других опубликованных библиотек противокоронавирусных соединений, что является значимым дополнением к характеристике соответствующего химического пространства.

На основании результатов ансамблевого докинга аннотированных библиотек автором была разработана методика виртуального скрининга потенциальных ингибиторов главной протеазы SARS-CoV-2. Было продемонстрировано на примере циклин-зависимой киназы 2, что разработанная методика составления ансамбля и виртуального скрининга может быть применена для любой мишени, для которой существует значительное количество белковых структур.

В следующей главе автор демонстрирует успешное применение виртуального скрининга методом систематического ансамблевого докинга для поиска потенциальных ингибиторов Mpro SARS-CoV-2. Обнаруженный класс замещенных тиенопиримидинов ранее не был описан как активный в отношении главной протеазы коронавирусов. Найденные соединения обладают сравнительно большими концентрациями полуингибирования, но могут быть использованы в качестве отправной точки для дизайна более активных и специфичных соединений. Соответствующие серии соединений для последующих экспериментальных исследований были предложены автором.

Фоминой А.Д. была исследована возможность улучшить точность виртуального скрининга методом ансамблевого докинга при помощи машинного обучения. Для построения моделей использовали векторное представление информации о способах связывания лигандов со структурами белка – дескрипторы взаимодействия. Данное направление является перспективным, и автору удалось добиться улучшения метрик качества виртуального скрининга при использовании представленной таким образом структурной информации в дополнение к классическим молекулярным дескрипторам. При этом продемонстрированы ограничения метода, в частности чувствительность к качеству данных и значительные вычислительные затраты.

В последней главе представлена работа по оптимизации разработанной методики систематического ансамблевого докинга для применения к синтетическим данным, и осуществлен поиск потенциальных лигандов белка NS1 ортофлавиринов. Автором выбрана малоизученная мишень. Из-за малого количества структурной информации обоснованно применение вычислительных методов для поиска потенциальных сайтов связывания малых молекул и моделирования структур белков различных ортофлавиринов по гомологии. В качестве альтернативы составлению ансамбля на основании разнообразия конформаций аминокислотных остатков активного центра Фоминой А.Д. предложен метод, основанный на максимизации суммы попарного коэффициента корреляции рангов результатов докинга разнообразных соединений в индивидуальные структуры. Автором показана важность разделения структур белка NS1 вирусов, переносимых клещами и комарами, при построении ансамблей и предложены фармакофорные модели потенциальных лигандов соответствующих белков.

Заключение диссертации полно отражает основные достижения автора, изложенные в нем выводы являются обоснованными, соответствуют поставленной цели и задачам. Достоверность полученных в работе результатов подтверждается использованием стандартных, широко используемых, статистически обоснованных алгоритмов и программного обеспечения. Автор демонстрирует высокий уровень владения современными инструментами вычислительной химии. Положения, выносимые на защиту полностью обоснованы и базируются на собственных расчётных данных автора.

Научная новизна работы состоит в разработке и реализации стратегии систематического отбора разнообразных ансамблей белковых структур на основании среднеквадратичного отклонения атомов аминокислотных остатков, формирующих сайт связывания; выявлении нового класса ингибиторов главной протеазы SARS-CoV-2 — замещенных тиено[3,2-*d*]пиримидинонов; демонстрации улучшения качества классификации при использовании

фингерпринтов взаимодействия для построения моделей машинного обучения; и обнаружении преимущества группировки моделей структуры белка NS1 по переносчикам вируса в рамках ансамблевого докинга.

Теоретическая и практическая значимость исследования состоит в разработке программы для ЭВМ для систематического отбора ансамблей белковых структур и виртуального скрининга методом ансамблевого докинга; формировании аннотированной базы данных низкомолекулярных соединений с экспериментально определенной активностью в отношении главной протеазы SARS-CoV-2; изучении возможных способов связывания лигандов с белком NS1 ортофлавириусов.

Принципиальные замечания, которые могли бы повлиять на положительную оценку работы, отсутствуют. Следует отметить несколько вопросов, не раскрытых в полной мере, не влияющих на значимость работы, но нуждающихся в пояснении:

1) Составление ансамблей было проведено в 2021 и 2022 годах. При этом автор отмечает значительную скорость с которой появлялись новые данные о структуре главной протеазы SARS-COV-2. Следовало провести актуализацию результатов в соответствии с более новыми данными.

2) Важной частью работы является составление ансамбля структур и автором проводится сравнение различных способов отбора. В том числе на рисунке 23 представлена тепловая карта среднеквадратичных отклонений. Эти значения зависят от того, по каким атомам проводилось выравнивание структур. Хотелось бы увидеть более расширенное описание этой части.

3) Структуру основной протеазы кластеризованы с помощью метода анализа главных компонент (рис. 22). Что входит (какие геометрические параметры являются доминирующими) в две основные компоненты?

Диссертация Фоминой Анастасии Дмитриевны является законченной научно-квалификационной работой, а задачи, связанные с проблемой разработки более надежных методов виртуального скрининга, 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 флавириусов» 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 физико-математических наук, профессор РАН

профессор кафедры физической химии химического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Хренова Мария Григорьевна



09.10.2025

Контактные данные:

Рабочий тел.: +7 (495) 939-48-40; рабочий e-mail: khrenovamg@my.msu.ru;

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

02.00.17 – Математическая и квантовая химия.

Адрес места работы: 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, Химический факультет ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова». Тел. +7 (495) 939-48-40; e-mail: khrenovamg@my.msu.ru

