

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию Борисевич Софии Станиславовны
на тему: «Алгоритм описания механизма противовирусной активности
ингибиторов мембранных вирусных белков методами молекулярного
моделирования», представленной на соискание ученой степени доктора
химических наук по специальности 1.4.16. – Медицинская химия**

Актуальность и практическая значимость проведенных С.С. Борисевич исследований не вызывают сомнений, поскольку поиск и разработка более безопасных и эффективных противовирусных препаратов с широким спектром действия является крайне важной задачей, учитывая недавний опыт пандемии COVID-19 и возможные новые биогенные угрозы.

Создание новых лекарственных препаратов - длительный и дорогостоящий процесс с высоким риском получения отрицательных результатов. Использование компьютерного моделирования позволяет снизить издержки и повысить вероятность успешного завершения фармацевтической разработки.

При введении в организм фармакологическое вещество должно вступить во взаимодействие с определенной молекулярной мишенью – согласно формулировке Нобелевского лауреата Пауля Эрлиха «*Corpora non agunt nisi fixata*» (Вещества не действуют, не будучи связанными). Работа С.С. Борисевич основана на компьютерном конструировании лекарств, базирующемся на структуре макромолекулы-мишени (в англоязычной литературе называемым «Target-Based Drug Design» или «Structure-Based Drug Design»).

Появление свободно-доступного программного обеспечения для молекулярного докинга и наличие компьютерных ресурсов, необходимых для выполнения соответствующих расчетов, привели к лавинообразному росту работ в этой области. Нередко выполняющие компьютерные расчеты исследователи не владеют физико-химическими основами молекулярного моделирования взаимодействия лигандов с мишенями, не осознают возможностей и ограничений подходов *in silico* и, во многих случаях, не проверяют полученные результаты расчетов в биологических экспериментах. Особенно ярко это проявилось в период пандемии COVID-19, когда множество таких работ публиковалось «в ускоренном

темпе». Как было отмечено в аналитическом обзоре (Muratov E. et al. *Chem. Soc. Rev.* 2021, 50(16), 9121-9151): «После многочисленных волн пандемии COVID-19 методы компьютерного дизайна лекарств и, в частности, молекулярный докинг, стали крайне популярными. Надежды возлагались на использование искусственного интеллекта, молекулярного моделирования и суперкомпьютеров для быстрого обнаружения остро необходимых терапевтических средств для борьбы с инфекцией SARS-CoV-2. Поиск по запросу “docking AND SARS-CoV-2” в архиве препринтов ChemRxiv дает около 14 000 работ. Многие, если не большинство из этих исследований, предлагают перепрофилировать известные лекарства, которые, согласно прогнозу, имеют аффинность по отношению к одной из мишеней коронавируса, преимущественно к главной протеазе вируса SARS-CoV-2. В большинстве случаев предсказания не сопровождаются экспериментальными доказательствами. Некоторые авторы выражали уверенность, что массовые вычислительные исследования, предсказывающие связывание между определенными молекулами лекарств и вирусными мишенями с высокой аффинностью, можно приравнять к экспериментальным доказательствам. Типичным примером такого рода ожиданий является публикация в *New England Journal of Medicine* на ранних этапах пандемии с оптимистичным названием «Как быстро открыть противовирусные лекарства». Однако с течением времени значительный ажиотаж в начале пандемии, связанный с надеждами на методы компьютерного дизайна лекарств, сменился разочарованием и критикой». И, далее: «В настоящее время простота доступа к соответствующему аппаратному и программному обеспечению обеспечивает тривиальность проведения виртуальных скрининговых исследований. Однако эта быстрая «демократизация» применения методов конструирования лекарств *in silico* не устраняет необходимости критической оценки компьютерных методов и получаемых с их использованием результатов в соответствии с принципом «Доверяй, но проверяй».

Учитывая данный комментарий, необходимо подчеркнуть, что диссертационная работа С.С. Борисевич основана на большом личном опыте практического применения методов молекулярного моделирования к поиску и разработке противовирусных соединений в сотрудничестве с химиками и

фармакологами, что обеспечило экспериментальную проверку полученных *in silico* результатов, имеет особенно важное значение.

Диссертационная работа изложена на 332 страницах машинописного текста включая 325 цитируемых литературных источников. Рукопись построена по традиционной схеме и состоит из введения, литературного обзора, методов и объектов исследования, результатов и выводов. Дополнительно представлен список сокращений и приложения.

Во Введении обоснована актуальность проведенного научного исследования, представлены положения, выносимые на защиту, указаны основная цель работы, задачи, практическая и научная значимость.

Литературный обзор представляет собой анализ научных публикаций, направленных на поиск противовирусных препаратов с применением методов молекулярного моделирования. В обзоре систематизированы данные, касающиеся структурных и функциональных особенностей мембранных белков вирусов гриппа (гемагглютинин и протонный M2 канал), поверхностного S-белка коронавируса SARS-CoV-2, F-белка респираторно-синцитиального вируса, гликопротеина вируса Эбола и белка р37 ортопоксвирусов. Описаны механизмы противовирусного действия малых молекул – ингибиторов указанных мембранных белков. Дополнительно в приложении приведен список лиганд-белковых комплексов соответствующих вирусных белков, пространственные структуры которых были расшифрованы экспериментальными методами и депонированы в общедоступную базу данных. В отдельном разделе обзора перечислены наиболее распространенные методы молекулярного моделирования, которые используются при разработке новых биологически активных соединений. Описаны их возможности и границы применимости. В заключении литературного обзора перечислены нерешённые проблемы в этой области, которые автор предлагает решить в своей работе.

Глава «Методы и объекты исследования» включает в себя подробное описание этапов молекулярного моделирования, а именно: подготовка рассматриваемых белков и лигандов к расчету с учетом их структурных особенностей и pH среды; построение моделей пространственной структуры белка *in silico*; способ поиска потенциального места связывания малых молекул;

процедуры молекулярного докинга, молекулярной динамики и метадинамики, а также анализ результатов теоретических расчетов.

В следующей главе приведены основные результаты диссертационной работы. Первые четыре раздела посвящены описанию ингибирующей активности малых молекул в отношении мембранных белков вируса гриппа, коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса и вируса Эбола. Описан фармакофорный профиль альтернативного сайта связывания ингибиторов гемагглютиниона вируса гриппа, представлен энергетический профиль конформационных переходов гемагглютиниона дикого и мутантного штамма вируса гриппа в зависимости от присутствия камфесцина. Отдельный подраздел посвящен влиянию противовирусных агентов камфесцина и гинсамида на функционирование протонного M2 канала вируса гриппа. С помощью метода мультилигандной динамики аннотирован потенциальный сайт связывания умифеновира в поверхностном S-белке SARS-CoV-2. Приведены результаты сравнения фармакофорных профилей сайтов связывания ингибиторов гемагглютиниона вируса гриппа и S-белка SARS-CoV-2, что позволяет предположить, что соединения, подавляющие фузогенную активность гемагглютиниона, могут также ингибировать S-белок. Описан механизм противовирусной активности производных эфиров (-)-борнеола и производных усниновой кислоты в отношении ряда штаммов SARS-CoV-2. С помощью методов молекулярного моделирования автор объяснил противовирусную активность производных фенилкумаринов и N-содержащих производных эфиров (-)-борнеола, которая может быть связана с влиянием малых молекул на F-белок респираторно-синцитиального вируса. Показано, что бициклический каркас производных камфена обеспечивает эффективное связывание с гидрофобными полостями сайтов связывания в гемагглютинине вируса гриппа и гликопротеине вируса Эбола. В следующем разделе приведен анализ химических структур ряда лигандов и фармакофорных профилей сайтов связывания ингибиторов поверхностных вирусных белков I типа. Результаты, изложенные в данном разделе, могут быть рассмотрены в качестве рекомендаций структурной модификации лигандов с целью повышения их противовирусной активности. Отдельный раздел главы «Результаты» посвящен мембранному белку р37 ортопоксвирусов. Описаны механизмы противовирусного действия

производных (+)-камфоры, (-)-фенхона и адамантанов в отношении *vaccinia virus*. Представлена прогностическая модель для оценки противовирусной активности (pIC50) соединений, содержащих адамантановый фрагмент в отношении *vaccinia virus*. Результаты теоретических расчетов находятся в полном согласии с данными биологических экспериментов. Глава завершается разделом, посвященным алгоритму молекулярного моделирования, в котором приведены возможности используемого авторов подхода, а также границам применимости.

Приведенные в работе результаты исследования полностью соответствуют поставленной цели и задачам и отражают суть проведенных теоретических исследований.

Диссертантом сформулированы теоретические положения, которые можно использовать для обоснования выбора биологической мишени, описания механизма противовирусного действия биологически активных соединений и для создания прогностической модели с целью оценки заданной биологической активности исследуемых структур. Разработана методология, позволяющая описать механизм заданной биологической активности соединений с использованием современного аппарата молекулярного моделирования и построить прогностическую модель для оценки биологической активности новых соединений.

Полученные С.С. Борисевич результаты обладают значительной новизной. Впервые описан фармакофорный профиль альтернативного сайта связывания малых молекул – ингибиторов гемагглютинаина вируса гриппа. Расширены границы применимости методов молекулярной метадинамики, которые позволили описать энергетический профиль конформационных перегруппировок гемагглютинаина и объяснить одну из возможных причин снижения патогенности камфецин-резистентного штамма вируса гриппа. Использование метода мультилигандной динамики позволило аннотировать сайт связывания ингибиторов фузогенной активности S-белка SARS-CoV-2. Сравнение фармакофорных профилей сайтов связывания, расположенных в области гептадных повторов гемагглютинаина вируса гриппа и S-белка SARS-CoV-2 позволяют предположить, что соединения, ингибирующие слияние клеточной мембраны и мембраны вируса гриппа, могут быть активны и в отношении S-белка. Впервые построена модель полноразмерного

протонного M2 канала вируса гриппа, геометрические параметры которого могут быть использованы для разработки новых блокаторов этого канала. В работе выдвинуто предположение, что малые молекулы могут одновременно ингибировать фузогенную активность гемагглютиниона вируса гриппа и блокировать протонный M2 канал. Создана оригинальная прогностическая модель для предсказания противовирусной активности новых соединений против ортопоксвирусов.

По материалам диссертации опубликовано 26 научных статей в журналах по медицинской химии, вирусологии, химии и фармакологии, из которых 20 – в журналах первого и второго квартилей (Q1/Q2) согласно информационным системам Core Collection Web of Science и Scopus. Полученные результаты представлены и обсуждены в виде 12 устных докладов на международных и российских конференциях.

Вместе с тем, как всякое большое исследование, рецензируемая работа не лишена определенных недостатков.

1. На стр. 79 читаем: «Структурно-ориентированный дизайн лекарств (в англоязычной литературе используется аббревиатура SBDD – Structure-Based Drug Design) широко используется в медицинской химии и представляет собой итеративный или циклический процесс, результатом которого является создание лекарственного препарата, *готового к клиническим испытаниям*». Это спорное учреждение – на этом этапе результатом является выявление фармакологически активного вещества, безопасность которого должна быть исследована в доклинических испытаниях. Неудивительно, что далее в изложении этапов исследований доклинические испытания безопасности по системе GLP не упоминаются совсем.
2. В разделе 1.5. «Заключение» следовало бы резюмировать в одном абзаце «основные методологические проблемы», решению которых посвящена диссертационная работа.
3. В разделе 3.1.1 и далее диссертант использует как синонимы два термина «*умифеновир*» и «*арбидол*». Это не синонимы: умифеновир – наименование фармакологически активной субстанции, для которой, собственно, и

- осуществляется моделирование, а арбидол – торговое наименование лекарственного препарата.
4. Диссертант систематически использует термин «*агент*» для идентификации изучаемых веществ (например, на стр. 146: «агент 173») - лучше было бы сказать: «*соединение*».
 5. На стр. 244 читаем: «К сожалению, такая рекомендация не может учитывать *общую токсичность* соединений» - следовало бы пояснить, что понимается под «*общей токсичностью*».
 6. На стр. 277 читаем: «Теоретически, ингибируя любой вирусный белок малыми молекулами, можно подавить вирусную инфекцию». Это не совсем так, известен ряд примеров, когда малые молекулы, ингибирующие рекомбинантные белки вируса в экспериментах *in vitro*, не подавляют репликацию вируса в клетке.
 7. В работе имеется некоторое количество опечаток и неудачных выражений, например, «Результаты подобного моделирования позволяют *осознать* форму полноразмерного S-белка» (стр. 35) - лучше было бы сказать: «*оценить*»; «... результаты молекулярно-динамических *симуляций*...» (стр. 71) - лучше было бы сказать: «... результаты моделирования методами молекулярной динамики взаимодействия ...»; «1.3.2. Высококонсервативный мембранный белок *ортопоксвирусов*» (стр. 72) - правильно: «*ортопоксвирус*»; «*первичная* аминокислотная последовательность» (стр. 79) – правильно: «*аминокислотная последовательность*» или «*первичная структура*»; «подготовка *протеина*» (стр. 86) - лучше было бы сказать: «*белка*»; «Выбор оптимальной *докинг позиции*» (стр. 92) - лучше было бы сказать: «Выбор оптимального сайта *связывания лиганда*»; и т.д.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Основные положения, выводы и результаты диссертационной работы корректны и научно обоснованы. Диссертационная работа соответствует специальности 1.4.16 – «Медицинская химия» по пунктам: установление молекулярных мишеней и исследование химических аспектов молекулярного механизма действия лекарственных препаратов; выявление взаимосвязи между химической структурой и физиологической активностью.

По достоверности, новизне, актуальности, научно-методическому уровню и практической значимости полученных результатов диссертация С.С. Борисевич отвечает требованиям ВАК (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» утвержденные Постановлением Правительства Российской Федерации от 23 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.16. – Медицинская химия, а сам диссертант заслуживает присвоения искомой ученой степени.

Официальный оппонент:

кандидат физико-математических наук, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник, заведующий отделом биоинформатики и лабораторией структурно-функционального конструирования лекарств ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»

Поройков Владимир Васильевич


20 мая 2024 года

Контактные данные:

тел.: +7 (499) 246-09-20, e-mail: vladimir.poroikov@ibmc.msk.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

03.00.02 – «Биофизика» (кандидат наук)

14.00.25 – «Фармакология» (доктор наук)

Адрес места работы:

119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича» Тел.: +7 (499) 246-09-20;

e-mail: vladimir.poroikov@ibmc.msk.ru

Подпись 
заверяю
Ученый секретарь ИБМХ к.х.н. Карлова Е.А.

