

## Отзыв

официального оппонента доктора химических наук  
Офицера Евгения Николаевича на диссертационную работу  
Орлова Алексея Александровича на тему

### **«Исследование химического пространства ингибиторов репродукции вируса клещевого энцефалита *in silico* и *in vitro*»,**

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по  
специальности 02.00.16 - Медицинская химия

Большая и современная по уровню выполнения работа Орлова А.А. посвящена разработке *in silico* и *in vitro* подходов к дизайну ингибиторов репродукции вируса клещевого энцефалита. В данном случае исполнитель очень точно использует термин «дизайн», в отличие от химиков-синтетиков. Проблема клещевого энцефалита актуальна для России и некоторых стран Европы. Профилактическая вакцинация является эффективной превентивной мерой, однако уровень вакцинирования населения в России не высок, а в эндемичных по клещевому энцефалиту территориях проживает свыше 60 млн. человек. Актуальность решения проблемы возросла в последние 25 лет в связи с резким увеличением и расширением распространения вируса КЭ, как следствие резкого уменьшения применения инсектицидов в сельском хозяйстве и охране лесов, что привело к существенному расширению ареала распространения вируса КЭ. В зону риска попало много новых регионов, в которых население никогда не проходило вакцинацию, а специфических лекарственных препаратов не существует. С другой стороны, терапия клещевого энцефалита с использованием специфических иммуноглобулинов сопряжена со рядом сложностей. Поэтому поиск новых соединений, обладающих ингибиторной активностью по отношению к вирусу клещевого энцефалита, является актуальной задачей и актуальность выбранной темы работы не вызывает сомнений, о чём несколько ниже.

#### **Актуальность темы работы**

Вспышки малоизученных вирусных инфекций и возникновение новых резистентных штаммов хорошо изученных вирусов делают разработку новых противовирусных лекарств важной областью исследований современной медицинской химии. Развитие методов высокопроизводительного скрининга низкомолекулярных органических соединений *in vitro* привело к накоплению большого объема информации о структуре и противовирусной активности соединений в общедоступных базах данных, таких как ChEMBL, PubChem BioAssay и др., однако целенаправленный анализ данных этих баз до исследований автора не проводился. Анализ этих данных необходим для идентификации структурных фрагментов, обуславливающих противовирусную активность, и может в дальнейшем служить основой для построения моделей структура-противовирусная активность и разработки новых препаратов.

#### **Общая структура работы**

Работа состоит из 7 частей и включает в себя введение, обзор литературы, обсуждение результатов, экспериментальную часть, выводы, список литературы и приложения. Материал работы изложен на 146 страницах машинописного текста, содержит 43 рисунка, 23 таблицы и 337 ссылок, что и для некоторых докторских диссертаций вполне хватает.

#### **Литературный обзор**

Полновесный обзор литературы состоит из двух частей. В первой части рассматриваются подходы к разработке ингибиторов репродукции флавивирусов, в

частности, обсуждается репликативный цикл флавивирусов, строение и функции вирусных белков и возможность их использования в качестве молекулярных мишеней для дизайна ингибиторов. Во второй части рассматриваются современные методы анализа имеющегося химического пространства. Обзор содержит 231 ссылку на литературные источники. Автор обоснованно выбирает цель работы и ставит соответствующие ей задачи. Сразу же остановимся на формулировке цели. Как пишет автор: «Целью работы является анализ химического пространства противофлавивирусных соединений, его расширение путём определения противовирусной активности низкомолекулярных органических соединений по отношению к репродукции вируса клещевого энцефалита *in vitro* и разработка подходов *in silico* к определению механизма действия соединений и отбору потенциально активных соединений с использованием общедоступных баз данных.» На самом деле «Целью работы является разработка подходов *in silico* к определению механизма действия соединений и отбору потенциально активных соединений путем анализа химического пространства противофлавивирусных соединений, его расширения за счет определения противовирусной активности низкомолекулярных органических соединений по отношению к репродукции вируса клещевого энцефалита *in vitro* и с использованием общедоступных баз данных.»

### **Новизна проведённых исследований и полученных результатов**

Орловым А.А. на основе данных ChEMBL создана библиотека низкомолекулярных соединений, для которых доступна информация о противофлавивирусной активности. Впервые такие данные были систематически проанализированы и с использованием методов анализа химического пространства построены карты химического пространства ингибиторов репродукции флавивирусов. Эти данные были использованы для прогнозирования механизма действия соединений, исследованных Орловым А.А. в экспериментах *in vitro* и послужили основой для разработки новой методики идентификации активных компонентов гуминовых веществ.

Большую часть работы Орлова А.А. составляет экспериментальное определение активности и цитотоксичности соединений *in vitro*. Им были впервые получены данные об активности нескольких классов аналогов нуклеозидов, селен- и сероорганических соединений по отношению к репродукции вируса клещевого энцефалита.

К числу наиболее существенных научных результатов работы можно отнести следующие:

- 1) данные о противовирусной активности 49 аналогов нуклеозидов по отношению к ингибированию репродукции вируса клещевого энцефалита, идентификация структурных фрагментов важных для проявления активности, а также данные по цитотоксичности активных соединений;
- 2) данные об эффективности ингибирования репродукции вируса клещевого энцефалита жёсткими амфифильными ингибиторами слияния по отношению к репродукции вируса клещевого энцефалита. Экспериментальное исследование механизма действия соединений *in vitro*;
- 3) идентификация 6 классов низкомолекулярных серо- и селенорганических соединений, проявляющих ингибиторную активность по отношению к репродукции вируса клещевого энцефалита, данные по цитотоксичности этих соединений. Прогноз механизма действия этих соединений;
- 4) разработка подходов к прогнозированию механизма действия низкомолекулярных органических соединений и идентификации активных компонентов гуминовых веществ с использованием информации, извлечённой из базы данных ChEMBL.

## **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, рекомендаций и заключений**

Методы компьютерной химии и биологические методы, использованные в работе, соответствуют современным требованиям для публикации в рецензируемых научных журналах. Наиболее важные результаты работы опубликованы в высокорейтинговых зарубежных журналах и представлены на международных конференциях.

## **Значимость результатов, полученных в работе для науки и практики**

Орловым А.А. создана аннотированная библиотека низкомолекулярных органических соединений, которая может быть использована для определения механизма действия соединений, исследования соотношений “структура-активность” и для проведения виртуального скрининга библиотек коммерчески доступных соединений. Автор на нескольких примерах показывает возможность применения этой библиотеки для решения этих задач.

Активные соединения, найденные в ходе скрининга *in vitro* могут служить в качестве соединений-хитов, а их дальнейшая оптимизация может стать основой для разработки новых лекарственных препаратов для терапии клещевого энцефалита.

## **Общая характеристика работы**

В соответствии с поставленными задачами проанализировано химическое пространство ингибиторов репродукции флавивирусов, разработаны подходы к прогнозированию механизма действия соединений и идентификации активных компонентов гуминовых веществ, а также определена противовирусная активность и цитотоксичность низкомолекулярных органических соединений. Содержание реферата в полной мере соответствует содержанию работы. Опубликованные работы в достаточной мере отражают основные результаты исследования.

## **Замечания**

По содержанию работы можно сделать следующие замечания:

- 1) Замечания необходимо начать с определения цели исследования. В работе она определена следующим образом: «Целью работы является анализ химического пространства противофлавивирусных соединений, его расширение путём определения противовирусной активности низкомолекулярных органических соединений по отношению к репродукции вируса клещевого энцефалита *in vitro* и разработка подходов *in silico* к определению механизма действия соединений и виртуальному скринингу библиотек коммерчески доступных низкомолекулярных органических соединений с использованием полученных данных». Как известно, анализ не может быть целью. Анализ предшествует выполнению работы. Представляется разумным, используя те же слова, сформулировать цель исследования следующим образом: «Целью работы является поиск соединений и разработка подходов *in silico* к определению механизма их действия путём анализа химического пространства противофлавивирусных соединений, его расширения за счет определения противовирусной активности низкомолекулярных органических соединений по отношению к репродукции вируса клещевого энцефалита *in vitro* и виртуальному скринингу библиотек коммерчески доступных низкомолекулярных органических соединений. Рецензент допускает, что и эта формулировка не является идеальной, но она несомненно ближе отражает суть работы и полученные результаты.

- 2) Автором работы построены карты химического пространства, однако возможность применения этих карт для поиска новых активных соединений обсуждена очень кратко;
- 3) Большая часть найденных активных соединений являются гидрофобными, однако автором не обсуждается возможность их дальнейшей оптимизации для создания водорастворимых аналогов;
- 4) Встречаются немногочисленные опечатки, которые отмечены на страницах диссертации, в том числе и в списке литературы.
- 5) Несколько слов относительно выводов. Так первый вывод выводом можно назвать условно: «Определены структурные особенности противофлавивирусных соединений с использованием информации, извлечённой из общедоступных баз данных, и методов анализа химического пространства, в том числе методов анализа главных компонент, самоорганизующихся карт Кохонена, сетей химического пространства и анализа скаффолдов.» Это констатирующая часть, а дальше должен следовать, собственно, текст вывода: «**Определенные структурные...** и анализа скаффолдов позволяют сделать вывод о том ....»
- 6) Дискуссионное замечание относительно названия работы. Не совсем понятно, что автор понимает под химическим пространством. Необходимо было дать определение. С точки зрения теории химического строения органических соединений химическое пространство складывается из двух структурных термов – механического (расположение атомов в пространстве) и электронного (распределение электронной плотности и её характер). Из этого следует, что автор использовал только часть химического пространства.
- 7) На рис. 2 обозначения по оси абсцисс очень мелкие и в печатном варианте становятся недоступными для рассмотрения.
- 8) Можно ли говорить о противовирусной активности соединений, когда последние взаимодействуют не с вирусом, а с мишенью хозяина?

Отмеченные недостатки в целом не снижают научных достоинств большого исследования, представленного в виде хорошо оформленной работы, не влияют на существо выводов и не меняют существа положений, вынесенных автором на защиту.

### **Заключение по научно-квалификационной работе в целом**

Автореферат достаточно подробно передаёт содержание диссертации.

Общий вывод по работе предельно ясен. Проведенное исследование на тему **"Исследование химического пространства ингибиторов репродукции вируса клещевого энцефалита *in silico* и *in vitro*"**, представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, в которой проведен систематический анализ ряда баз данных с целью поиска противофлавивирусных соединений, обнаружены существенные структурные особенности, как результат виртуального скрининга, и разработан общий алгоритм организации исследований при поиске и разработке новых БАВ целенаправленного действия. **Практическая значимость** полученных результатов заключается в том, что предложены методология и общие подходы к организации исследований при поиске как новых веществ, так и среди известных по базам данных, что представляет особый интерес для медико-биологических исследований в разных направлениях. **Все исследования выполнены лично автором или при его непосредственном участии, в том числе и экспериментальное исследование механизма действия производных 5-(перилен-3-илэтинил)уридина *in vitro***, что характеризует широту приобретенных практических навыков.

Представленная работа по тематике, методам исследования и предложенным новым научным положениям соответствует паспорту специальности 02.00.16 – Медицинская химия – по пунктам 1 (поиск, структурный дизайн и синтез соединений-лидеров -

потенциальных физиологически активных (лекарственных) веществ, на основе: а) знания структурных параметров биомишени или особенностей патогенеза; б) анализа и модификации структур известных активных соединений; в) синтеза и биологического тестирования широкого разнообразия химических соединений), 2 (использование фундаментальных методов математической химии (компьютерного молекулярного моделирования и QSAR) с целью прогнозирования возможности взаимодействия определенных химических соединений с предполагаемой биологической мишенью, а также для выявления взаимосвязи между химической структурой и физиологической активностью) и 6 (биологическое и физиологическое (*in vitro* и *in vivo*) тестирование сконструированных и синтезированных соединений на предмет изучения особенностей их взаимодействия с молекулярными мишенями организма). Диссертационное исследование по актуальности, новизне и практической значимости **полностью отвечает требованиям пп. 9 - 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), предъявляемым к квалификационным работам на соискание ученой степени кандидата химических наук, а его автор, Орлов Алексей Александрович, заслуживает присуждения ему учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.16 - Медицинская химия.**

И в заключение необходимо добавить, что проведенная разработка методологии и методов отбора и синтеза перспективных классов биологически активных соединений для борьбы с клещевым энцефалитом, несомненно, будет реализована, что будет являться вкладом не только в медицинскую химию, но и в фармакологию.

Д.х.н., профессор, декан факультета  
химико-фармацевтических технологий  
и биомедицинских препаратов  
РХТУ им. Д.И. Менделеева



Е.Н. Офицеров

30.08.2019

РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Миусская площадь, д.9, 8499-978-61-32. E.mail: ofitser@mail.ru

Подпись Е.Н. Офицера "Заверяю"  
Ученый секретарь Университета



Н.К. Калинина

30.08.2019