

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу
Дуевой Евгении Владимировны «Разработка низкомолекулярных
ингибиторов репродукции переносимых клещами флавивирусов»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.16 – медицинская химия

Риску заболеваний, вызываемых флавивирусами, по некоторым оценкам, на сегодняшний день подвержено около 3 миллиардов человек по всему миру. На территории России широко распространенным представителем этого рода является вирус клещевого энцефалита. Помимо этого, встречаются сочетанные очаги вируса клещевого энцефалита и других флавивирусов, например, вируса Повассан. Ввиду отсутствия специфических препаратов для лечения вызываемых флавивирусами инфекций, не вызывают сомнения актуальность и практическая значимость диссертационной работы Дуевой Е. В., направленной на разработку соединений, способных ингибировать репродукцию вируса клещевого энцефалита и вируса Повассан, переносимых клещами. Поиск лекарственных соединений требует больших затрат времени и ресурсов, применение методов компьютерного моделирования, бурно развивающихся в последнее время, призвано сократить издержки и ускорить выход новых лекарств на рынок. В диссертационной работе Дуева Е. В. использует методы, основанные на знании структур биологической мишени, которые также были получены с помощью компьютерного моделирования. Использование вычислительных методов позволило значительно сократить объем экспериментальной работы, и при этом идентифицировать ингибиторы репродукции вируса клещевого энцефалита и вируса Повассан со значениями EC_{50} , достигающими 0,07 мкМ.

Диссертационная работа Дуевой Е. В. включает все необходимые разделы: список сокращений, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, выводы, приложение и список цитируемой литературы. Работа изложена на 130 страницах машинописного

текста и включает 23 таблицы и 48 рисунков. В библиографии диссертации представлено 266 источников.

Во введении автор убедительно обосновал актуальность темы диссертации и степень ее разработанности, сформулировал цель исследования и вытекающие из нее решаемые задачи. Также описан личный вклад автора в полученные результаты.

Обзор литературы состоит из 4 глав, первая из которых кратко описывает клинические проявления заболеваний, вызываемых вирусом клещевого энцефалита и вирусом Повассан, их распространенность и свидетельствует о важности избранной темы диссертационной работы. Во второй главе автор дает характеристику генома и белков флавивирусов, а также описывает их цикл репликации. Особое внимание уделено строению белка оболочки флавивирусов E на разных стадиях жизненного цикла вируса. Следующая глава посвящена процессу слияния вирусной и клеточной мембран, в котором непосредственную роль играют конформационные перестройки белков E. Последняя глава представляет обзор структур низкомолекулярных соединений – ингибиторов репродукции флавивирусов, воздействующих на белки E, и, вероятно, изменяющих их конформационную подвижность, что препятствует слиянию мембран. К настоящему времени такие ингибиторы известны лишь для переносимых комарами флавивирусов. Диссертационная работа Дугевой Е. В. направлена на поиск подобных соединений, направленных против репродукции переносимых клещами вируса клещевого энцефалита и вируса Повассан. Обзор литературы в работе Дугевой Е. В. проведен на высоком уровне и дает адекватное представление об объектах исследования и состоянии соответствующей научной области. Рассмотрено значительное число публикаций, включая результаты исследований последних лет. Материал хорошо структурирован и иллюстрирован, изложен четко и помогает разобраться в результатах диссертационной работы.

В разделе «Материалы и методы» достаточно подробно описаны применявшиеся для достижения поставленных задач методики вычислительных и вирусологических экспериментов.

Раздел «Результаты и обсуждение» включает большой объем экспериментальных данных по проведенным автором расчетам. В первой главе описаны результаты моделирования структуры белков оболочки E вирусов клещевого энцефалита и Повассан. В карманы полученных моделей производился докинг библиотеки низкомолекулярных соединений ХимЭкс, содержащей удлиненные гетероциклические молекулы. Для отобранных по его результатам соединений были измерены значения цитотоксичности и активности в отношении вируса клещевого энцефалита и Повассан. Семь идентифицированных соединений могут рассматриваться как потенциальные противовирусные препараты (следует отметить, что для двух из них активность против вируса клещевого энцефалита является на сегодняшний день рекордной).

В третьей главе методом молекулярной динамики показан возможный механизм действия этих веществ: связывание с белком E и затруднение его конформационной перестройки, необходимой для слияния с клеточной мембраной.

Четвертая глава посвящена разработке производных 4-аминотетрагидрохиназолин-N-оксида в качестве ингибиторов репродукции вируса клещевого энцефалита. Ряд гидроксифенильных и адамантильных производных продемонстрировал приемлемую активность и цитотоксичность в испытаниях *in vitro*. Представлен анализ соотношений структура – активность. Приведенные результаты исследования механизма действия идентифицированных ингибиторов, свидетельствуют в пользу того, что данные низкомолекулярные соединения проявляют активность на стадии проникновения вируса в клетку, по всей вероятности, взаимодействуя с белками вирусной оболочки.

В пятой главе содержится анализ консервативности аминокислотных последовательностей различных штаммов вируса клещевого энцефалита, содержащихся в базе GenBank, который показал, что штаммы могут различаться лишь по ограниченному числу аминокислотных замен в ограниченном числе позиций, лежащих на периферии. Из этого автор делает вывод о важной роли региона кармана белка E в жизненном цикле вируса и перспективности его использования в качестве мишени противовирусных соединений с широким спектром активности. Для соединений 4-аминотетрагидрохиназолин-N-оксида в экспериментах *in vitro* была установлена активность против 7 штаммов вируса клещевого энцефалита, относящихся ко всем известным подтипам, что безусловно важно в разработке противовирусных соединений. На основе полученных результатов в диссертационной работе была выдвинута гипотеза о том, что количество белка E, не задействованного в формировании инфекционных вирионов, может играть роль в определении активности противовирусных соединений, действующих на белки оболочки. В главе 5 приводятся результаты экспериментов, подтверждающих эту гипотезу.

Материалы исследования последовательно изложены в подготовленной диссертации и ее автореферате. Выводы логично вытекают из экспериментальных данных, полностью соответствуют целям и задачам исследования. Обоснованность и достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнения. Материалы работы Дуевой Е. В. достаточно полно отражены в трех публикациях автора в международных рецензируемых научных журналах и многократно докладывались ей на международных и российских конференциях.

Диссертационная работа написана в хорошем научном стиле, хотя и не лишена отдельных недостатков:

- 1) Раздел 3.4 обзора литературы не имеет непосредственного отношения к проводимым в диссертационной работе исследованиям и мог быть представлен в сокращенном виде.
- 2) В обзоре литературы содержатся отдельные опечатки, которые, однако, не отражаются на понимании текста.
- 3) Автор не останавливается подробно на причинах выбора именно библиотек соединений ХимЭкс и 1,6-замещенных производных 4-фторпиримидин-N-оксида, хотя это является важным моментом в виртуальном скрининге.

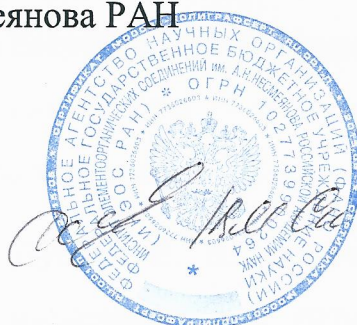
Сделанные замечания не влияют на общую положительную оценку работы и, таким образом, можно сделать вывод, что диссертационная работа Дуевой Е. В. «Разработка низкомолекулярных ингибиторов репродукции переносимых клещами флавивирусов» полностью отвечает всем критериям пунктов 9 – 14 Положения о присуждении научных степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 года в редакции от 21.04.2016 года, а ее автор заслуживает присвоения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.16 — медицинская химия.

Доктор химических наук, профессор,
зав. лабораторией фосфорорганических соединений
ФГБУН Институт элементоорганических
соединений имени А. Н. Несмеянова РАН



Брель В. К.

ПОДПИСЬ
УДОСТОВЕРЯЮ
ОТДЕЛ КАДРОВ ИНЭОС РАН



В диссертационный совет Д 501.001.69
при ФГБОУ ВО «Московский
государственный университет имени М.В.
Ломоносова» от Бреля Валерия Кузьмича

Настоящим даю согласие выступить официальным оппонентом на защите диссертации Дуевой Евгении Владимировны на тему "Разработка низкомолекулярных ингибиторов репродукции переносимых клещами флавивирусов", представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.16 - медицинская химия. О себе сообщаю следующие сведения:

1. Брель Валерий Кузьмич, гражданин РФ.
2. Доктор химических наук (02.00.03 - органическая химия), профессор, заведующий лабораторией фосфорорганических соединений.
3. Место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук.
4. Адрес места работы: 119991, Москва, ул. Вавилова, 28,
Тел: +7-495-601-22-46,
e-mail: v_brel@mail.ru
5. Основные работы по профилю оппонируемой диссертации:
 1. Makarov M. Yu., Brel V., K. Ryubalkina E. Yu. 3,5-Bis(arylidene)-4-piperidones Modified by Phosphonate and Bisphosphonate Groups as Novel Anticancer Agents. Phosphorus, Sulfur, and Silicon, 2015, 190, 741-746.
 2. Яркевич А.Н., Брель В.К., Махаева Г.Ф., Серебрякова О.Г., Болтнева Н.П., Ковалева Н.В. Синтез и исследование биологической активности фосфорилированных аминов и амидов. Журнал общей химии. 2015, 85(7), 1120-1125.

3. Артющин, О. И., Шарова, Е. В., Яркевич, А. Н., Генкина, Г. К., Виноградова, Н. В., Брель, В. К. "Конструирование фосфонатных аналогов коротких пептидов с использованием методологии «клик-химии» Известия АН Серия химическая, 2015, 29, 2172-2177.
4. Брель В. К. Применение методологии «клик-химии» для синтеза конъюгатов анабазина и цитизина с производными изоксазола. Журнал органической химии. 2016, 52(1), 61-67.
5. Шарова Е.В., Генкина Г.К., Матвеева Е.В., Горюнова И.Б., Горюнов Е.И., Артющин О.И., Брель В.К. Фосфорилирование цитизина с использованием методологии «клик»-химии. Известия АН. Серия химическая. 2014, 11, 2546-2550.

Д.х.н., профессор, зав. лабораторией
фосфорорганических соединений
ФГБУН Институт элементоорганических
соединений им. А. Н. Несмеянова РАН


Брель В. К.

