

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Козловской Любови Игоревны на тему: «Фенотип-направленный анализ противовирусной активности потенциальных лекарственных препаратов в отношении РНК-содержащих вирусов», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология»

Актуальность проведенных Л.И. Козловской исследований несомненна, поскольку в настоящее время в Российской Федерации «узким местом» фармацевтических исследований и разработок является создание и практическое использование тест-систем для экспериментальных исследований биологической активности лекарственно-подобных соединений. Наличие тест-систем для изучения различных видов биологической активности позволит реализовать имеющийся в стране значительный потенциал в области органической и медицинской химии, что крайне важно для достижения технологического суверенитета России.

В особенности это необходимо в области поиска и разработки новых противовирусных соединений, убедительным свидетельством чему стала пандемия COVID-19, уроки которой должны быть усвоены для эффективного ответа на новые биогенные угрозы. Наличие таких потенциальных угроз недавно убедительно продемонстрировано китайскими учеными, которые провели систематические исследования и выявили у грызунов тропического острова Хайнань восемь новых опасных вирусов (Li Y. et al. Diversity and independent evolutionary profiling of rodent-borne viruses in Hainan, a tropical island of China. *Virologica Sinica*, **2023**, 38: 651–662. <https://doi.org/10.1016/j.virs.2023.08.003>). Отмечается, что эти вирусы с высокой вероятностью будут заражать людей, если они когда-либо преодолеют видовой барьер. При этом известно, что туры на Хайнань весьма популярны среди российских путешественников (см., например: <https://www.tez-tour.com/catalog/china/hainan.html>), что может привести к заражению новыми вирусами российских граждан и распространению новых вирусных инфекций на территории Российской Федерации.

Фенотипический подход к исследованию биологической активности развивается с конца 50-х годов XX века, в основном в направлении поиска соединений, избирательно цитотоксичных в отношении опухолевых клеточных линий. Широкомасштабные исследования в данном направлении были развернуты в Национальном раковом институте США (National Cancer Institute, NCI, NIH), где было исследовано действие сотен тысяч соединений на 60 клеточных линий (впоследствии набор клеточных линий был расширен). Проводились подобные исследования и в СССР на базе Онкологического научного центра, хотя и в существенно меньшем масштабе. Сравнительно недавно фенотипический скрининг начал применяться для оценки самых разных видов биологической активности, связанных с ответом клетки на воздействие лекарственно-подобных веществ.

Особое внимание уделяется фенотипическому скринингу противовирусных соединений, что обусловлено самой природой инфекционного процесса, включающего связывание вируса с клеточными рецепторами, проникновение в клетку, репликацией вируса в клетке, формированием новых вирионов и высвобождение из клетки. Это позволяет методами фенотипического скрининга исследовать влияние самых разных лекарственно-подобных соединений на различные стадии вирусной инфекции.

Рецензируемая диссертационная работа представляет результаты объемных исследований, выполненных под руководством и с непосредственным участием Л.И. Козловской, в рамках которых были разработаны оригинальные методы фенотипического скрининга, проведена их валидация, осуществлено исследование противовирусной активности лекарственно-подобных соединений из разных химических классов по отношению к ряду РНК-содержащих вирусов различных семейств (*Flaviviridae*, *Togaviridae*, *Coronaviridae*, *Picornaviridae* и *Retroviridae*).

Докторантом впервые разработаны и валидированы методики фенотипического скрининга с учетом особенностей различных вирусов, проведены сравнительные исследования результатов различных методик фенотипического скрининга и выявлены новые низкомолекулярные ингибиторы представителей родов *Orthoflavivirus* (БКЭ, ПОВ, ВОГЛ), *Enterovirus* (виды ЭВ-А, ЭВ-В, ЭВ-С), *Betacoronavirus* (SARS-CoV-2), *Alphavirus* (ЧИКВ) и *Lentivirus* (ВИЧ-1).

Показано, что полученные данные в целом соотносятся с результатами других лабораторий. Не вызывает сомнения заслуга автора в разработке стандартизованного подхода со сравнительной оценкой эффективности разных методов, что позволило сформировать схему поиска лекарств на основе фенотипических тестов.

Важно подчеркнуть, что исследования диссертанта носят комплексный характер, включая предварительный отбор наиболее перспективных соединений для фенотипического скрининга с применением методов оценки биологической активности *in silico*, и определение возможных мишеней действия выявленных противовирусных соединений с учетом того, на каких фазах жизненного цикла различных вирусов действуют конкретные препараты.

Необходимо отдельно отметить широкое сотрудничество диссертанта с химиками-синтетиками из ряда российских научно-исследовательских институтов и университетов, включая ИБХ РАН, ИМБ РАН, МГУ им. М.В. Ломоносова, МИТХТ им. М.В. Ломоносова, МИРЭА РТУ, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», ФГБУ "НМИЦ кардиологии" МЗ РФ, а также международное сотрудничество с Институтом Рега (Лёвен, Бельгия), в рамках которого было осуществлено сопоставление методик фенотипического скрининга. Широкое сотрудничество с российскими химиками дополнительно подчеркивает практическую направленность и востребованность исследований, проводимых диссертантом.

С учетом необходимости оперативного реагирования на пандемию COVID-19 и будущие биогенные угрозы значимость проведенных под руководством Л.И. Козловской исследований трудно переоценить: решена научная проблема, имеющая важное политическое, социально-экономическое и хозяйственное значение. Таким образом, диссертационная работа Л. И. Козловской без сомнения удовлетворяет требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук.

По материалам диссертации опубликовано 37 научных статей в журналах по медицинской химии, вирусологии, химии и фармакологии, из которых 34 – в журналах, индексируемых информационными системами Scopus и/или Web of

Science. Полученные результаты представлены и обсуждены в виде более 15 докладов на международных и российских конференциях.

Вместе с тем, рецензируемая диссертационная работа не лишена определенных недостатков.

1. Поскольку акцент в работе делается на лекарственно-подобных соединениях (малых молекулах), хотелось бы видеть в постановочной части обоснование достоинства таких соединений по сравнению с биологическими препаратами (естественно, также и с указанием недостатков, если таковые имеются).

2. В работе обсуждаются преимущества соединений нуклеозидной природы, как возможных противовирусных препаратов широкого спектра действия. Насколько это оправдано с учетом того, что у РНК-зависимых РНК-полимераз и обратных транскриптаз вирусов имеется сходство на уровне трехмерной структуры с рядом нуклеотидных полимераз, которые встречаются у самых разных биологических видов, включая человека? Структурно-функциональное сходство между нуклеотидными репликазами вирусов и эукариот дает основание для вопроса о возможных побочных эффектах (Feng J.Y. *Antivir. Chem. Chemother.*, 2018, 26: 2040206618758524). В частности, вопрос о мутагенном действии молнупиравира на клетки хозяина остается открытым (Masyeni S. et al. *J. Med. Virol.*, 2022, 94: 3006-3016). Тератогенный эффект ингибиторов RdRp рибавирина и фавипиравира был показан на мышах (Kochhar D.M. et al. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1980, 52: 99-112). Кроме того, применение противовирусных препаратов, действующих как мутагены, рассматривается как скрытая угроза появления новых вариантов вирусов (Жирнов О.П., Чернышова А.И. *Журн. микробиол. эпидемиол. иммунобиол.*, 2021; 98: 213-220).

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 1.5.10. – Вирусология по пункту 10: Разработка мер предупреждения, диагностики и лечения вирусных заболеваний, совершенствование лабораторной диагностики, терапии, и иммунопрофилактики вирусных инфекций, проблемы санитарной вирусологии.

По новизне, актуальности, научно-методическому уровню и практической значимости полученных результатов диссертация Л.И. Козловской 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 биологических наук по специальности 1.5.10. – Вирусология, 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


26 октября 2023 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.

