

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 исследования

Актуальность темы исследования обусловлена потребностью в разработке методик, обеспечивающих повышение эффективности разработки терапевтических препаратов противовирусного действия. Фенотип-направленный подход (PDD) к поиску соединений с потенциальной противовирусной активностью не только позволяет обеспечить высокую эффективность скрининга большого количества соединений, но и характеризуется более высоким, в сравнении с мишень-ориентированным подходом (TDD), потенциалом по успешному использованию результатов на стадии клинических испытаний. Требования, предъявляемые как к оперативности валидации противовирусного эффекта среди спектра существующих препаратов в отношении новых вирусов, так и к поиску принципиально новых соединений, стали особенно очевидны на фоне пандемии COVID-19. Не меньшую важность имеет также и задача стандартизации используемых методик, обеспечивающая воспроизводимую межлабораторную оценку фенотипического тестирования противовирусной активности и терапевтического индекса изучаемого препарата.

РНК-содержащие вирусы, как объект исследования, несомненно являются одним из наиболее важных и сохраняющих свою перспективность мишеней для поиска и разработки противовирусных препаратов.

С учетом вышеизложенного, можно отметить, что диссертационная работа Козловской Любови Игоревны, в которой проведена разработка фенотип-направленного подхода к оценке противовирусной активности соединений *in vitro* для создания лекарственных препаратов против различных РНК-содержащих вирусов является безусловно актуальной, а ее связь с биологической наукой (вирусология) и с прикладными аспектами разработки терапевтических препаратов очевидна.

Целью проведенной работы явилась разработка и внедрение фенотип-направленного подхода к оценке противовирусной активности соединений *in vitro* для создания лекарственных препаратов против различных РНК-содержащих вирусов.

Для достижения заявленной цели были поставлены следующие задачи:

1. Разработка методик фенотипической оценки противовирусной активности *in vitro* в отношении РНК-содержащих вирусов различных типов и семейств (сем. *Flaviviridae*,

Togaviridae, *Coronaviridae*, *Picornaviridae* и *Retroviridae*), применимых для скрининга, выявления механизма действия и оценки вирулицидной активности соединений;

2. Определение противовирусной активности соединений различных химических классов с помощью разработанных методик;
3. Выявление контролируемых (стандартизуемых) параметров фенотипических методик скрининга противовирусной активности соединений *in vitro*;
4. Сравнение значений активности, полученных с помощью фенотипических методик с различными способами детекции ингибирования репродукции вируса, в собственных экспериментах и с данными, полученными другими лабораториями;
5. Разработка схемы фенотипического поиска потенциальных противовирусных лекарственных препаратов *in vitro* с помощью разработанных методик с выявлением соединений-лидеров из больших серий соединений для дальнейшего исследования в доклинических и клинических испытаниях.

Научная новизна исследования

Автором впервые разработаны валидированные методики фенотипического скрининга и проведено сравнение количественных показателей противовирусной активности препаратов в отношении отдельных представителей сем. *Flaviviridae*, *Togaviridae* и *Coronaviridae*. Разработаны подходы к стандартизации параметров методик фенотипического скрининга противовирусной активности *in vitro* в отношении литических РНК-содержащих вирусов

Теоретическая и практическая значимость работы

В ходе работы автором определены фенотипические параметры оценки противовирусной активности *in vitro*, проведено их сравнение с различными способами ингибирования репродукции вируса и экспериментально доказана воспроизводимость количественных параметров показателей противовирусной активности.

Разработанные и внедренные в практику методики фенотипического скрининга противовирусной активности соединений позволяют количественно выявлять показатели их противовирусной активности и цитотоксичности, проводить анализ соотношений структура-активность и решать первичные задачи таргетной деконволюции с определением стадии репликативного цикла вируса, являющуюся мишенью действия препарата. Эффективность и производительность предложенного алгоритма фенотипического скрининга подтверждена выявлением новых низкомолекулярных ингибиторов репродукции представителей родов *Orthoflavivirus*, *Enterovirus*, *Betacoronavirus*, *Alphavirus* и *Lentivirus*.

Оценка содержания работы

Диссертация Козловской Л.И. построена по традиционному принципу, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, полученных результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературных источников. Диссертация изложена на 294 страницах, содержит 44 рисунка и 67 таблиц. Список литературы состоит из 11 отечественных и 362 зарубежных источников.

Глава 1 «Обзор литературы» достаточно полно отражает современные представления о существующих алгоритмах поиска новых терапевтических препаратов с противовирусной активностью в том числе в отношении РНК-содержащих вирусов. Детально рассмотрены методы оценки ингибирующей активности соединений на эффективность репродукции вируса в клеточных культурах. Дана краткая характеристика используемых в работе вирусов и основных классов противовирусных препаратов.

В главе 2 «Материалы и методы» дана краткая характеристика клеточных линий различного происхождения, использованных в работе, штаммов РНК-содержащих вирусов и источники получения исследуемых препаратов. Подробно описаны методы выделения и титрования вирусов в культурах клеток и вспомогательные методы, использованные в работе, включая методы высокопроизводительного секвенирования, трансмиссионной электронной микроскопии и др. Основной объем информации, представленной в данной главе посвящен характеристике методов оценки токсического действия соединений на культуры клеток и методов оценки их противовирусной активности.

Используемый набор методов исследований может быть охарактеризован как современный и соответствующий поставленным задачам.

Результаты собственных исследований и обсуждение их результатов представлены автором в третьей главе. Подразделы данной главы построены по общему принципу с четкой структуризацией задач по отработке используемой методики и описанию результатов ее применения. В случае применения методик фенотипического скрининга противовирусной активности – со сравнением методик в отношении изучаемых групп вирусов – ортофлавириусов, энтеровирусов, тогавирусов, лентивирусов и коронавирусов.

Использованные автором методики фенотипического определения механизма действия соединений были основаны на временном анализе развития максимального эффекта соединений и реконструкции соответствующей стадии репликативного цикла вируса. Автором уделено внимание также важному вопросу валидации противовирусной активности препаратов в отношении штаммов нескольких актуальных филогенетических линий возбудителей. Важность оценки доза-зависимых эффектов при работе со штаммами вирусов наглядно проиллюстрирована сопоставлением результатов исследований,

скрининга противовирусной активности соединений позволил автору сформулировать детальные рекомендации к проведению таких исследований. Итогом собственных исследований явилась разработка научно-обоснованной схемы поиска лекарственных препаратов с использованием фенотипических тестов.

Обоснованность и достоверность полученных результатов.

Обоснованность и достоверность научных выводов и положений диссертационной работы обеспечивается эффективным выбором методологии исследований, их объемом и логической интерпретацией полученных результатов.

Основные научные положения диссертации изложены в 37 научных работах, все в рецензируемых научных изданиях, в том числе работ в научных изданиях, индексируемых базами Scopus и/или Web of Science – 34 и патентов на изобретение в РФ – 1.

Результаты работы могут быть рекомендованы к более широкому дальнейшему практическому применению в целях совершенствования поиска терапевтических препаратов, обладающих противовирусной активностью и сокращению длительности доклинических стадий их разработки. Использование результатов исследования в учебном процессе позволит повысить эффективность обучения студентов и специалистов, проходящих послевузовскую подготовку по специальности «вирусология».

Принципиальных замечаний к изложенным в диссертации материалам нет.

В ходе ознакомления с диссертационной работой возникли следующие **вопросы**:

Оценивалось ли автором влияние возможной контаминации клеточных линий латентными вирусами на получаемые экспериментальные результаты?

Заключение.

Диссертация Козловской Любови Игоревны «Фенотип-направленный анализ противовирусной активности потенциальных лекарственных препаратов в отношении РНК-содержащих вирусов», представленная к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10. - «Вирусология», является научноквалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи разработки и внедрения в практику фенотип-направленного подхода к оценке противовирусной активности соединений *in vitro* для создания лекарственных препаратов против различных РНК-содержащих вирусов, имеющей значение для развития вирусологии, в ней изложены научно-обоснованные решения, имеющие существенное значение для развития страны.

Работа Козловской Любови Игоревны полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология».

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук,
заместитель директора по эпидемиологии
ФБУН Центральный научно-исследовательский
институт эпидемиологии Роспотребнадзора

Подколзин Александр Тихонович



15 ноября 2023 года

Контактные данные:

тел.: +7 (499)974-96-46, e-mail: apodkolzin@pcr.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

14.02.02. – Эпидемиология

14.01.09 – Инфекционные болезни

Адрес места работы:

111123, Россия, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3Ф

Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Тел.: +7 (499) 974-96-46;

e-mail: crie@pcr.ru

