

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.255.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ИССЛЕДОВАНИЙ И РАЗРАБОТКИ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ИМ. М.П. ЧУМАКОВА РАН» (ИНСТИТУТ ПОЛИОМИЕЛИТА) МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 15.12.2023 г. № 19

О присуждении Козловской Любови Игоревне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Фенотип-направленный анализ противовирусной активности потенциальных лекарственных препаратов в отношении РНК-содержащих вирусов» по специальности 1.5.10. – «Вирусология» принята к защите 12.09.2023 г. (Протокол заседания № 14) диссертационным советом 24.1.255.01, созданным на базе ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) Минобрнауки России (108819, г. Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1), Приказ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации о выдаче разрешения на создание диссертационного совета №188 от 10 марта 2021 г. (с изменениями: Приказ № 127/нк от 15 июня 2023 г. Минобрнауки России).

Соискатель Козловская Любовь Игоревна, 27.11.1984 года рождения.

В 2007 году Козловская Л.И. окончила Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (специальность «биохимия»).

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Гликозаминогликан-связывающие варианты вируса клещевого энцефалита» защитила в 2010 г. по специальности 03.02.02. – «Вирусология» в диссертационном совете, созданном на базе «Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН», работает заведующим лаборатории полиомиелита и других энтеровирусных инфекций с референс-

центром ВОЗ по надзору за полиомиелитом ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Диссертация выполнена в лаборатории полиомиелита и других энтеровирусных инфекций с референс-центром ВОЗ по надзору за полиомиелитом ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Научный консультант – Ишмухаметов Айдар Айратович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, генеральный директор Федерального государственного автономного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Официальные оппоненты:

Борисевич Сергей Владимирович – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, начальник Федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации;

Поройков Владимир Васильевич – доктор биологических наук профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник, заведующий отделом биоинформатики и лаборатории структурно-функционального конструирования лекарств Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»;

Подколзин Александр Тихонович – доктор медицинских наук, заместитель директора по эпидемиологии Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» - в своем положительном отзыве, подписанном доктором биологических наук, заведующим лабораторией экспериментальной

вирусологии Зарубаевым Владимиром Викторовичем, указала, что диссертация Козловской Любови Игоревны на тему: «Фенотип-направленный анализ противовирусной активности потенциальных лекарственных препаратов в отношении РНК-содержащих вирусов» представляет собой самостоятельно выполненную и законченную научно-квалификационную работу, в которой на основании исследований автора сформулирована новая научная концепция разработки новых методик фенотипического скрининга, позволяющая проанализировать до 2500 соединений в одном эксперименте без применения роботизированных технологий. Подчеркивается значимость полученных в работе результатов и возможность их использования для разработки и оптимизации протоколов тестирования противовирусных соединений. А также указывается, что разработка и применение новых противовирусных соединений, направленных на различные мишени актуальных для человека вирусов и обладающих различными механизмами действия, сможет послужить весомым вкладом в развитие терапевтических протоколов для расширения фармакологического арсенала и достижения оптимальных результатов при лечении вирусных инфекций. По своей актуальности, объему проведенных исследований, методическому уровню, научной ценности и практической значимости представленная работа Козловской Л.И. полностью отвечает требованиям пп.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в ред. Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г.; №1024 от 28.08.2017 г.; №1168 от 01.01.2018 г.; № 426 от 20.03.2021 г.; с изменениями в действующей ред. от 18.03.2023 г.), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Козловская Любовь Игоревна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология».

Соискатель имеет 86 опубликованных работ, по теме диссертации опубликовано 37 работ, 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.

Наиболее значительные работы по теме диссертации:

1. Osolodkin D.I., Kozlovskaya L.I., Dueva E.V., Dotsenko V.V., Rogova Y.V., Frolov K.A., Krivokolysko S.G., Romanova E.G., Morozov A.S., Karganova G.G.,

- Palyulin V.A., Pentkovski V.M., Zefirov N.S. Inhibitors of tick-borne flavivirus reproduction from structure-based virtual screening. // *ACS Med Chem Lett.* – 2013.– Vol. 4.– P. 869-874. DOI: 10.1021/ml400226s.
2. Kozlovskaya L.I., Golinets A.D., Eletsкая A.A., Orlov A.A., Palyulin A.V., Kochetkov S.N., Alexandrova L.A., Osolodkin D.I. Selective inhibition of Enterovirus A species members' reproduction by furano[2, 3-d]pyrimidine nucleosides revealed by antiviral activity profiling against (+)ssRNA viruses. // *ChemistrySelect* – 2018.– Vol. 3.– P. 2321-2325. DOI: 10.1002/slct.201703052.
3. Dueva E.V., Tuchynskaya K.K., Kozlovskaya L.I., Osolodkin D.I., Sedenkova K.N., Averina E.B., Palyulin V.A., Karganova G.G. Spectrum of antiviral activity of 4-aminopyrimidine N-oxides against a broad panel of tick-borne encephalitis virus strains. // *Antivir Chem Chemother.* – 2020.– Vol. 28.– P. 2040206620943462. DOI: 10.1177/2040206620943462.
4. Kozlovskaya L.I., Volok V.P., Shtro A.A., Nikolaeva Y.V., Chistov A.A., Matyugina E.S., Belyaev E.S., Jegorov A.V., Snoeck R., Korshun V.A., Andrei G., Osolodkin D.I., Ishmukhametov A.A., Aralov A.V. Phenoxazine nucleoside derivatives with a multiple activity against RNA and DNA viruses. // *Eur J Med Chem.* – 2021.– Vol. 220.– P. 113467. DOI: 10.1016/j.ejmech.2021.113467.

В опубликованных работах рассматривается разработка и валидация с использованием ингибиторов широкого спектра действия методик фенотипического скрининга противовирусных препаратов в отношении различных РНК-содержащих вирусов. Разработанные методики применены для скрининга серий низкомолекулярных соединений нескольких химических классов для поиска ингибиторов репродукции переносимых клещами вирусов рода *Orthoflavivirus*, вирусов трёх видов рода *Enterovirus*, нового вируса SARS-CoV-2 рода *Betacoronavirus*, а также вируса Чикунгунья рода *Alphavirus* и ВИЧ-1 рода *Lentivirus*, с выявлением новых и «первых в своём классе» ингибиторов. А также проводится сравнение противовирусной активности препаратов против разных штаммов вируса клещевого энцефалита с выявлением зависимости оценки противовирусной активности от свойств вирусного препарата (соотношения инфекционных и неинфекционных вирионов). В приведённых работах показано применение комбинации разработанных в диссертационной работе методик для выявления соединений-лидеров с разработкой соотношений

структура-активность и выявления стадии-мишени репликативного цикла вируса для проведения дальнейшей оптимизации и исследования в доклинических испытаниях. Авторский вклад в опубликованных работах соискателя составляет не менее 75%. Недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, отсутствуют.

На диссертацию и автореферат поступили положительные отзывы:

1. Лукашева Александра Николаевича, доктора медицинских наук, профессора, члена-корреспондента РАН, директора Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет);

2. Соколовой Ольги Сергеевны, доктора биологических наук, профессора РАН, доцента кафедры биоинженерии, биологического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»;

3. Игнатьева Георгия Михайловича, доктора медицинских наук, профессора, ведущего научного сотрудника лаборатории молекулярной биотехнологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;

4. Новиковой Надежды Алексеевны, доктора биологических наук, профессора, заведующего лабораторией молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной»;

5. Кедика Станислава Анатольевича, доктора технических наук, профессора, заведующего кафедрой биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «МИРЭА - Российский технологический университет».

В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования были разработаны подходы к стандартизации и сравнению методик фенотипического скрининга противовирусной активности в культуре клеток с выявлением параметров, влияющих на результаты исследования. С помощью разработанных методов Любови Игоревне удалось быстро создать систему для поиска препаратов против нового вируса SARS-CoV-2, что позволило провести доклинические испытания новых препаратов и их аналогов, а также рассмотреть возможность репозиционирования противовирусных препаратов по новым показаниям.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в вопросах рассмотренной диссертации, большим опытом работы в изучении различных вопросов вирусологии, разработки лекарственных препаратов и подходов к их поиску и тестированию, известностью специалистов и организаций в области изучаемой проблемы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

с использованием разработанных методов в ходе диссертационной работы методик на панели РНК-содержащих вирусов с различным строением вириона и схемой репликации **получены новые данные** об активности известных противовирусных препаратов и ингибиторов широкого спектра действия;

выявлены новые классы химических соединений, такие как производные перилена, 4-аминотетрагидрохиназолина и изоксазола, обладающие противовирусной активностью в отношении РНК-содержащих вирусов, ассоциированных с патологиями человека;

таким образом, **разработаны** экспериментальные подходы на основе фенотип-направленного анализа к решению проблем, существующих в поиске противовирусных средств.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана эффективность фенотип-направленного подхода к оценке противовирусной активности потенциальных лекарственных препаратов в отношении РНК-содержащих вирусов, опосредованная созданием методик фенотипического скрининга противовирусной активности *in vitro*, позволяющих проанализировать от 300 до 2500 соединений в одном эксперименте без применения роботизированных технологий и выявлением новых

низкомолекулярных ингибиторов репродукции представителей родов *Orthoflavivirus*, *Enterovirus*, *Betacoronavirus*, *Alphavirus* и *Lentivirus*;

показана применимость фенотип-направленного подхода к оценке противовирусной активности соединений различных химических классов, а также сложных смесей природного происхождения;

проведением сравнения параметров фенотипических методик оценки противовирусной активности в собственных экспериментах с данными других лабораторий **выявлены** оптимальные значения параметров для стандартизации методик фенотипического скрининга противовирусной активности с целью унификации и сравнимости получаемых результатов;

представлена информация о возможности использования разработанных методик фенотипического скрининга противовирусной активности *in vitro* как основы для разработки автоматизированных систем высокопроизводительного скрининга.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны, апробированы и введены в практику работы лабораторий ФГАНУ «ФНЦИРИП им М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) методы оценки цитотоксичности, фенотипического скрининга противовирусной активности кандидатов в лекарственные препараты, начального определения механизма их действия и оценки вирулицидной активности в отношении РНК-содержащих вирусов различных семейств *Flaviviridae* (ВКЭ, ПОВ и ВОГЛ), *Togaviridae* (вирус Чикунгунья), *Coronaviridae* (SARS-CoV-2), *Picornaviridae* (энтеровирусы видов А, В и С) и *Retroviridae* (ВИЧ-1);

определены основные параметры фенотипического скрининга противовирусной активности *in vitro*, влияющие на результаты исследования, такие как метод оценки, характеристики вируса (штамм, доза) и вирусного препарата (соотношение инфекционных и неинфекционных частиц);

предложена схема поиска лекарственных препаратов против РНК-содержащих вирусов на основе комбинации методик фенотипической оценки противовирусной активности *in vitro*, позволяющая выявлять соединения-лидеры для последующего исследования в доклинических и клинических испытаниях.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

для экспериментальных работ результаты подтверждены проведением экспериментов с использованием калиброванного оборудования и многократным повторением каждого эксперимента для каждого исследованного вируса с проведением статистической обработки данных адекватно подобранными методами, эксперименты проведены на высоком научно-методическом уровне с применением рационально использованных методов детекции вирус-индуцированной и токсической гибели клеток, результаты воспроизводятся в различных условиях проведения экспериментов;

теория исследования построена на известных проверенных данных и согласуется с опубликованными данными по теме диссертации;

идея базируется на анализе теоретических и практических данных отечественных и зарубежных ученых в области поиска противовирусных препаратов;

установлено, что результаты исследований согласуются с результатами других авторов, представленных в независимых источниках, и существенно дополняют их;

использованы современные методики сбора и обработки исходной информации, представлены результаты экспериментов, примеры расчётов основных величин и проведения сравнения с обоснованием выбора метода статистической обработки. Представленный объем материала и качество проведенных исследований являются достаточными для решения поставленных задач и отвечают существующим требованиям, что позволяет рассматривать представленные результаты, научные положения, выводы и рекомендации как обоснованные и достоверные.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Автором самостоятельно проведено планирование и организация всех этапов диссертационного исследования; определены цели и задачи, разработаны протоколы экспериментов, осуществлено их проведение, а также сбор и анализ экспериментальных данных, их статистическая обработка и визуализация для публикации. Результаты исследования представлены на российских и международных конференциях, подготовлены публикации по выполненной работе. Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформы, идейной

линии, концептуальности и взаимосвязи выводов. Автором сформулированы основные положения и выводы диссертации. С участием автора подготовлены основные публикации по материалам исследования. Все выводы и практические рекомендации диссертации логично выстроены на основе полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Козловская Л.И. ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

На заседании 15.12.2023 г. диссертационный совет принял решение:

за успешное решение научной проблемы по поиску противовирусных лекарственных препаратов путём разработки и внедрения фенотип-направленного подхода к оценке противовирусной активности соединений *in vitro*, а также его апробацию на панели РНК-содержащих вирусов различных типов и семейств (сем. *Flaviviridae*, *Togaviridae*, *Coronaviridae*, *Picornaviridae* и *Retroviridae*), имеющих (в совокупности) существенное значение для развития биологической науки и, в частности, вирусологии, присудить Козловской Л.И. учёную степень доктора биологических наук.


При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 15 докторов наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология», участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали: за – 16, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель (заместитель председателя)
диссертационного совета 24.1.255.01
профессор, доктор медицинских наук


Е.А. Ткаченко

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.255.01
кандидат биологических наук




А.В. Белякова

«15» декабря 2023 г.