

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
ФБУН ФНИИВИ «Виром»

Роспотребнадзора,
д.б.н.



А.В. Семенов

2025 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической значимости диссертации Волобуевой Александрины Сергеевны на тему: «Характеристика противовирусной активности новых гетероциклических соединений в отношении вирусов рода *Enterovirus*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность темы выполненной работы

Вирусы рода *Enterovirus* (полиовирусы, неполиомиелитные энтеровирусы и риновирусы) являются возбудителями заболеваний человека с широким разнообразием клинических форм. Большое значение для здравоохранения представляет способность этих вирусов становиться возбудителями вспышек инфекции в детских коллективах. В современных условиях высокой мобильности населения и интенсивных процессов трудовой миграции энтеровирусы легко распространяются на новые территории. С учетом их высокой генетической изменчивости, в будущем возможно появление новых высокопатогенных штаммов. Разработка вакцин для профилактики заболеваний, вызываемых вирусами рода *Enterovirus* затруднена по причине их высокого генетического и серологического разнообразия. Вакцинация доступна только для защиты от полиомиелита (вакцины одобрены Всемирной организацией здравоохранения) и инфекции, вызываемой вирусом EVA71 (вакцины разработаны и зарегистрированы в

Китае). При этом в настоящее время отсутствуют доступные этиотропные лекарственные препараты для терапии полиомиелита, энтеровирусной или риновирусной инфекции. Известно, что постановка диагноза в некоторых случаях может быть затруднена, поскольку энтеровирусы одного типа могут быть причиной заболеваний с разной клинической формой, при этом вирусы разных типов способны вызывать одну и ту же клиническую форму инфекции. Лечение пациентов обычно направлено на облегчение тяжелых симптомов инфекции и включает использование иммунокорректирующих, патогенетических и симптоматических средств. Поэтому поиск новых химических соединений, обладающих прямой вирус-ингибирующей активностью в отношении широкого спектра вирусов рода *Enterovirus*, является важным направлением исследований.

Диссертация Волобуевой Александрины Сергеевны посвящена исследованию противовирусной активности *in vitro* и *in vivo* новых синтетических соединений групп вердазилов, лейковердазилов, аналогов плеконарила и производных бензолсульфамидов в отношении вирусов рода *Enterovirus*. Данная кандидатская диссертация актуальна, имеет большую теоретическую и практическую значимость для разработки лекарственных средств для терапии энтеровирусных инфекций.

Новизна полученных результатов и выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации, заключается в том, что А.С. Волобуевой выявлено новое соединение-аналог плеконарила, обладающего противовирусной активностью *in vitro* в отношении широкого спектра выбранных вирусов рода *Enterovirus*, включая плеконарил-резистентный штамм вируса Коксаки. На модели энтеровирусного панкреатита у самцов мышей BALB/c применение этого соединения снижало вирусную нагрузку в органе-мишени. В геноме штамма вируса Коксаки, резистентного к данному соединению, картированы новые полиморфизмы в генах белков капсида VP1 и VP3, ассоциированные со сниженной репликативной активностью вируса. В

исследовании А.С. Волобуевой впервые охарактеризованы противовирусные свойства лейковердазилов. Впервые в результате исследования механизма их действия на примере соединения-лидера показано, что оно ингибирует внутриклеточный этап вирусной репродукции. Впервые исследована принципиальная возможность выработки резистентности вирусом Коксаки к соединению из группы лейковердазилов. В геноме резистентного штамма вируса Коксаки обнаружены новые мутации в гене многофункционального белка 2С. Впервые показаны сниженные ростовые характеристики штамма вируса Коксаки, несущего эти мутации.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты выполненного исследования А.С. Волобуевой расширяют знания о биологической активности исследованных соединений групп вердазилов, лейковердазилов, аналогов плеконарила и производных бензолсульфамидов и могут быть использованы для пополнения баз данных программного обеспечения, реализующего методы исследований *in silico*. Кроме того, полученные сведения об аминокислотных заменах в вирусных белках VP1, VP2, 2С, характерных для резистентных штаммов со сниженными ростовыми характеристиками, могут быть использованы для синтеза мишень-ориентированных химических соединений-ингибиторов энтеровирусов. Практическую значимость для разработки противовирусных средств для терапии энтеровирусных инфекций представляет выявление аналога плеконарила, обладающего протективной активностью на модели энтеровирусного панкреатита у мышей, что делает данное соединение кандидатом для проведения расширенных доклинических исследований.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в выполнении всех разделов данного исследования, а также в проведении анализа полученных данных и представлении результатов на конференциях и в виде научных публикаций.

Степень достоверности и обоснованности представленных данных

Достоверность и обоснованность представленных в диссертационной работе данных обусловлена комплексным подходом к проведению исследования, корректным выбором современных методических подходов, строгими условиями проведения опытов, наличием повторов в экспериментах и адекватно подобранным методами статистической обработки полученных данных. Объем материала, использованный в исследовании, достаточен для получения достоверных результатов. Положения, выносимые на защиту, сформулированные автором, являются логически обоснованными. Все выводы диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы. Все это позволяет отметить, что проведенное исследование является оригинальным научно-квалификационным трудом, завершенным в рамках поставленной цели и задач.

Достоинства и недостатки содержания и оформления работы

Диссертация написана в традиционном стиле, изложена на 175 страницах компьютерного текста, состоит из введения, глав (обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты, обсуждение), заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 155 источников литературы и 5 приложений. Работа иллюстрирована 18 таблицами и 46 рисунками.

Во введении сформулирована цель работы «дать характеристику противовирусных свойств *in vitro* и *in vivo* новых гетероциклических соединений групп вердазилов, лейковердазилов, аналогов плеконарила и производных бензолсульфамидов в отношении вирусов рода *Enterovirus*». Все запланированные задачи соответствовали цели исследования и были выполнены в полной мере.

В обзоре литературы подробно описано строение, жизненный цикл вирусов этого рода, их роль в инфекционной патологии человека. Особое внимание уделено обзору современного состояния разработки средств для лечения инфекций, вызываемых полиовирусами, неполиомиелитными энтеровирусами и риновирусами. Автор приводит химические формулы малых молекул-ингибиторов, в отдельных случаях иллюстрируя их способ взаимодействия с вирусными мишенями с использованием материалов базы данных Банка белковых структур PDB.

Глава «Материалы и методы» дает достаточное представление о технической стороне работы, подробно описывает использованные в работе методики. В работе использованы как классические вирусологические методы с применением пермиссивных клеточных культур и животных моделей, так и современные молекулярно-биологические методы.

Глава «Результаты» состоит из 4 основных разделов, соответствующих положениям, выносимым на защиту и обосновывающих их. Все результаты сопровождаются информативным материалом в графическом или табличном формате. Соискатель выносит обсуждение полученных результатов исследования в отдельную главу, в которой они сопоставляются с результатами ранее опубликованных работ других исследователей.

В главе «Заключение» А.С. Волобуева обобщает и анализирует результаты исследования, подтверждает их важность и актуальность. В разделе диссертации «Выводы» соискателем показано достижение цели и поставленных в работе задач. Дополнительно приводятся рекомендации относительно возможных областей практического применения полученных результатов и перспективах дальнейшей разработки темы.

Апробация работы и публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 6 научных работ: 2 статьи в журналах Перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на

соискание ученых степеней доктора и кандидата наук (Перечень ВАК), 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в библиографических базах – Web of Science и/или Scopus, получен 1 патент на изобретение в РФ. Материалы работы многократно представлены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях – как в личных докладах, так и online формате.

Научная специальность, которой соответствует диссертация

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. Вирусология (биологические науки) и направлениям исследования: пункту 4 «Молекулярная биология вирусов, структурно-функциональная биология вирусных белков. Структура и экспрессия вирусных геномов. Эволюция вирусов и их разнообразие. Генетика и геномика вирусов. Популяционная генетика»; пункту 10 «Разработка мер предупреждения, диагностики и лечения вирусных заболеваний, совершенствование лабораторной диагностики, терапии, и иммунопрофилактики вирусных инфекций, проблемы санитарной вирусологии»; пункту 11 «Противовирусные препараты. Интерфероны и индукторы интерферона: изучение механизма действия, получение и применение. Вирусные вакцины, в том числе живые (аттенуированные), инаktivированные, субъединичные, рекомбинантные (реплицирующиеся и нереплицирующиеся), векторные и вакцины на основе вирусоподобных частиц».

Общие замечания по диссертационной работе

Представленная работа не лишена ряда недостатков, к которым можно отнести:

- шрифт подписей ряда рисунков (например, рисунки 33, 35) недостаточно крупный, что усложняет восприятие результатов;
- низкое разрешение рисунков, иллюстрирующих результаты электронно-микроскопического исследования;

- в работе присутствует ряд опечаток (например, подпись к рисунку 37)

Указанные недостатки носят технический характер и не снижают научной значимости диссертационной работы.

Есть ряд вопросов к соискателю:

В литературе описаны различные модели энтеровирусной инфекции *in vivo*, например, известна модель энтеровирусного миокардита, почему в данном исследовании была выбрана именно модель панкреатита для исследования протективной активности соединений-лидеров?

В описании исследований по выработке резистентности указано, что в одном случае вирус пассировали в присутствии соединения-лидера 7 пассажей, а в другом – 9 пассажей. Чем обусловлены выбранные сроки пассирования?

Как осуществлялся выбор типов Коксаки вирусов для данного эксперимента?

Заключение

Диссертационная работа Волобуевой Александрины Сергеевны на тему: «Характеристика противовирусной активности новых гетероциклических соединений в отношении вирусов рода *Enterovirus*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология, является законченным научно-квалификационным исследованием, посвященным актуальной научной задаче – поиску новых лекарственных средств для терапии инфекций, вызываемых энтеровирусами и риновирусами, имеет большое практическое и теоретическое значение и может способствовать значительному продвижению в этой области.

Диссертация Волобуевой А.С. полностью соответствует требованиям пунктам 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (включая редакции постановлений Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 г., № 748 от 02 августа 2016 г., № 650 от

29 мая 2017 г., № 1024 от 28 августа 2017 г., № 1168 от 01 октября 2018 г., №751 от 26.05.2020 г., № 1690 от 26.09.2022 г., № 842 от 23.09.2023 г., № 415 от 18.03.2023, N 1786 от 26.10.2023, № 62 от 25.01.2024 и № 1382 от 16.10.2024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, ученой степени кандидата наук, а ее автор, Волобуева Александрина Сергеевна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Отзыв обсужден и утвержден на расширенном заседании Ученого совета ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора (Протокол №7 от 24 июля 2025 г.).

Отзыв составил:

Ведущий научный сотрудник лаборатории энтеральных вирусных инфекций
ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора

кандидат биологических наук,

e-mail: itani_tm@niivirom.ru

тел: +7(982)667-84-53



Итани Тарек Мохамедович

Подпись к.б.н. Итани Т.М. заверяю.

Ученый секретарь

ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора

«24»



Михайленко Юлия Александровна

Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 620030, Российская Федерация, Свердловская область, г.о. г. Екатеринбург, ул. Летняя, стр. 23. Тел.: +7 (343) 261-99-47. Факс +7 (343) 261-99-47, <https://niivirom.ru/>, e-mail: info@niivirom.ru