

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата биологических наук Голицыной Людмилы Николаевны на диссертационную работу Волобуевой Александрины Сергеевны на тему: «Характеристика противовирусной активности новых гетероциклических соединений в отношении вирусов рода *Enterovirus*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность темы диссертации

Вирусы рода *Enterovirus* имеют большое значение в инфекционной патологии человека. Энтеровирусы являются возбудителями заболеваний, характеризующихся полиморфизмом клинических проявлений и различной тяжестью течения. Неполиомиелитные энтеровирусы – наиболее частая причина серозного менингита. Ежегодно по всему миру возникают вспышки энтеровирусных инфекций, наиболее высокая заболеваемость регистрируется у детей младших возрастных групп. С риновирусами связывают более половины случаев острых респираторных инфекций. Установлено, что риновирусная инфекция является одной из причин обострения астмы и хронического бронхита. В связи с чрезвычайным серологическим разнообразием возбудителя разработка средств специфической профилактики энтеро/риновирусных инфекций сложна. На сегодняшний день в Китае зарегистрированы и применяются вакцины только против одного неполиомиелитного энтеровируса – *E. alphacoxsackie 71*. Этиотропная терапия заболеваний, обусловленных энтеровирусами и риновирусами, также отсутствует. Несмотря на многочисленные многолетние исследования в области разработки препаратов прямого противовирусного действия, на текущий момент не зарегистрировано ни одного средства для лечения энтеро/риновирусной инфекции. Таким образом, дальнейший поиск и разработка противовирусных препаратов для терапии данных заболеваний является важной научной задачей. Учитывая вышесказанное, актуальность и значимость диссертационного исследования Александрины Сергеевны Волобуевой, посвященного поиску и изучению

свойств новых низкомолекулярных ингибиторов энтеровирусов и риновирусов, не вызывает сомнений.

Строение и структура диссертационной работы

Диссертационная работа оформлена по традиционному плану и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты, обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и условных обозначений, список литературы и 5 приложений. Работа изложена на 175 страницах, содержит 46 рисунков и 18 таблиц. Список литературы состоит из 155 источников.

В разделе «Введение» последовательно представлены актуальность и степень разработанности темы исследования, цель и задачи исследования, научная новизна полученных результатов и их теоретическая и практическая значимость, методология исследования, положения, выносимые на защиту, и информация о публикациях и апробации результатов.

В обзоре литературы автор приводит современное представление о биологии энтеровирусов и риновирусов, их строении, жизненном цикле и роли в инфекционной патологии человека. Проведен анализ информации о разработке препаратов для этиотропной терапии энтеро/риновирусных инфекций на основе малых молекул, включая ингибиторы структурных и неструктурных вирусных белков.

В главе «Материалы и методы исследований» содержится описание использованных в работе материалов (штаммов, культур клеток и др.), реагентов и методов, включая классические вирусологические и современные молекулярно-биологические методы. Выбранные автором методические подходы соответствуют поставленной цели и задачам.

В главе «Результаты», состоящей из 4 разделов, подробно изложены результаты выполненного исследования, обосновывающие сформулированные положения диссертации, выносимые на защиту. Полученные результаты представлены последовательно в текстовом, табличном и графическом виде. В

следующей главе представлено обсуждение полученных результатов и их сопоставление с ранее опубликованными работами в выбранной области.

В главах «Заключение» и «Выводы» дано краткое изложение полученных результатов исследования в соответствии с поставленными задачами исследования.

Все разделы диссертация изложены правильным, понятным языком и содержат достаточное количество релевантных иллюстраций и таблиц.

Научная новизна полученных результатов и выводов

В результате выполненной работы автором впервые исследована противовирусная активность новых синтетических соединений групп лейковердазилов и вердазилов, аналогов плеконарила и производных бензолсульфамидов. В группе аналогов плеконарила обнаружено новое соединение-лидер с широким спектром активности в отношении энтеровирусов трех видов и штамма риновируса В *in vitro*. Важно отметить, что указанное соединение также обладало протективной активностью *in vivo* на модели энтеровирусного панкреатита у мышей в условиях их инфицирования вирусом Коксаки В5. В ходе исследования впервые получен и охарактеризован штамм вируса Коксаки В3, устойчивый к данному соединению. В геноме резистентного штамма картированы новые мутации, сопровождающиеся снижением скорости репликации вируса в культуре клеток.

Автором работы показан высокий противовирусный потенциал лейковердазилов в отношении энтеровирусов *in vitro*. В исследовании впервые изучен их предполагаемый механизм противовирусной активности и показана принципиальная возможность выработки резистентности к соединениям данной группы на примере соединения-лидера. Показано, что резистентность к соединению-лидеру из группы лейковердазилов сопровождается снижением ростовых свойств вируса в культуре клеток и приобретением новых ранее не выявленных мутаций в гене многофункционального белка 2С.

Практическая значимость работы

В результате выполненной работы автором были получены важные сведения о биологической активности новых химических соединений групп аналогов плеконарила, производных бензолсульфамидов, вердазилов и лейковердазилов, которые можно использовать при разработке новых противовирусных препаратов. Данные о новых мутациях в вирусных белках VP1, VP3, 2С, которые сопровождаются снижением скорости репродукции вируса, также могут быть использованы при мишень-ориентированном дизайне противовирусных препаратов. Перспективное значение имеет выявление автором нового аналога плеконарила, преодолевающего устойчивость к исходному соединению, и обладающего активностью *in vivo* на модели энтеровирусного панкреатита у мышей.

Степень обоснованности и достоверности представленных положений и выводов

Диссертационное исследование выполнено на современном методическом уровне. Достоверность заявленных результатов определяется логически выстроенным дизайном исследования, применением комплекса адекватных методов, включая статистическую обработку данных. Положения, выносимые на защиту, являются обоснованными. Сформулированные выводы согласуются с поставленными задачами. Результаты диссертационной работы Волобуевой А.С. отражены в 6 научных публикациях, включая 5 статей в ведущих отечественных и международных научных изданиях, и 1 патент на изобретение в РФ. Полученные результаты были неоднократно представлены автором в форме докладов на российских и международных научных конференциях.

Содержание автореферата соответствует основным идеям и выводам диссертации.

Запланированные в рамках данной диссертационной работы задачи выполнены, поставленная цель достигнута. Проведенное исследование является оригинальным, завершенным научно-квалификационным трудом, соответствующим паспорту специальности 1.5.10. Вирусология.

Замечания (вопросы) по диссертационной работе

1. Несмотря на то, что в обзоре литературы автор приводит современную классификацию рода *Enterovirus*, в некоторых разделах диссертации присутствует устаревшее деление энтеровирусов на группы (Коксаки и ЕСНО), которое не только не отражает их генетические, но и патогенетические свойства.

2. В главе «Результаты», п. 3.1.2. Исследование противовирусной активности *in vitro* новых соединений группы бензолсульфамидов приведено неточное название Таблицы 8 «Показатели цитопротективной и цитотоксической активности некоторых исследованных аналогов плеконарила ...», в которой представлены результаты анализа цитопротекции бензолсульфамидов.

Выявленные неточности не снижают уровень проведенных исследований, достоверность полученных результатов, обоснованность выводов и положений, выносимых на защиту.

В п.1.1 «Обзора литературы» говорится о двух механизмах выхода вируса из клетки: «Для энтеровирусов и риновирусов описан как выход из клетки посредством разрыва клеточной мембраны, так и выход вирионов в составе одно мембранных везикул путем использования механизма аутофагии. Нахождение вирионов внутри везикул препятствует доступу нейтрализующих антител к вирусным частицам, обеспечивая беспрепятственное распространение вируса по организму».

Вопрос: Каким образом в случае выхода вируса из клетки в составе везикул будут действовать нейтрализующие антитела, образовавшиеся в результате иммунизации?

Заключение

Диссертация Волобуевой Александрины Сергеевны на тему: «Характеристика противовирусной активности новых гетероциклических соединений в отношении вирусов рода *Enterovirus*» соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. Вирусология, является законченной научно-квалификационной работой и по актуальности, научной новизне, практической

значимости результатов и объему проведенных исследований отвечает требованиям пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 N 723, от 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415, от 26.10.2023 № 1786, от 25.01.2024 № 62, от 16.10.2024 N 1382), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Волобуева Александрина Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России №1 от 09.01.2020 г. (ред. от 01.03.2024 г.), необходимых для работы диссертационного совета 24.1.255.01.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций, руководитель референс-центра по мониторингу за энтеровирусными инфекциями

ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора

кандидат биологических наук

e-mail: lyudmila_galitzina@mail.ru

тел: +7 905 664 68 28



Голицына Людмила Николаевна

Ученый секретарь

ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора

кандидат биологических наук



М.С. Снегирева

26 августа 2025 г.