



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный
химико-фармацевтический университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России)
Профессора Попова ул., д. 14, лит. А
вн.тер.г. муниципальный округ Аптекарский остров
Санкт-Петербург, 197022
Телефон (812) 499-39-00. Факс: (812) 499-39-03
E-mail: rectorat.main@pharminnotech.com
ОКПО 00481985, ОГРН 1037828029007
ИНН 7813045875, КПП 781301001

28.02.2025 № 14-342

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГБОУ ВО СПХФУ

Минздрава России

доктор фармацевтических наук,
профессор

 И.А. Наркевич

«28» февраля 2025 года



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Щеблякова Дмитрия Викторовича «Разработка универсальной технологической платформы для создания средств терапии и диагностики инфекционных заболеваний на основе однодоменных антител», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки), 1.5.6. Биотехнология (биологические науки)

АКТУАЛЬНОСТЬ И ЗНАЧИМОСТЬ ПОЛУЧЕННЫХ АВТОРОМ ДИССЕРТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ДЛЯ РАЗВИТИЯ НАУКИ

Актуальность темы исследования

Исследования, направленные на борьбу с инфекционными заболеваниями, остаются актуальными, в особенности при возникновении новых подъемов или вспышек инфекций, вызванных известными возбудителями, или при возникновении новых пандемий, как в случае коронавируса SARS-Cov-2 и COVID-19. При этом использование нейтрализующих агентов на основе моноклональных антител или их производных является одним из перспективных методов борьбы с инфекциями. На сегодняшний день, в результате открытий в области иммунологии, биотехнологии и молекулярной генетики существует ряд разнообразных молекул на основе моноклональных антител и их фрагментов, которые активно применяются в клинической практике, в особенности в онкологии. Одним из перспективных видов моноклональных антител, открытых относительно недавно и обладающих рядом уникальных свойств являются неканонические антитела верблюдовых (однодоменные антитела). Они характеризуются хорошей растворимостью, способны распознавать скрытые эпитопы, что может иметь перспективы при создании средств

борьбы с вирусными инфекциями, обладающими широким спектром нейтрализующей активности, кроме того, однодоменная структура может значительно упростить создание иммунных библиотек и способы отбора молекул с уникальными свойствами. Однако, несмотря на активные исследования, комплексное изучение, направленное на разработку методологии поиска уникальных молекул однодоменных антител и создания на их основе препаратов для борьбы с инфекционными заболеваниями в клинической практике, не проводились.

Благодаря исследованиям, выполненным Щебляковым Д.В., была создана такая технологическая платформа, успешное применение которой на многочисленных инфекционных моделях (вирус Эбола, коронавирусу SARS-Cov-2, ботулотоксин типа А и токсин В *C.difficile*, микоплазма *M.hominis*) подтверждает актуальность выбранного направления и научную и практическую ценность для медицины.

Научная новизна

Научная новизна исследования заключается во многих аспектах: как в аспектах разработки методических подходов по поиску, отбору и созданию препаратов на основе однодоменных антител, так и новых данных об уникальных препаратах, разработанных в ходе выполнения исследования и изучения их свойств, в том числе в многочисленных доклинических и клинических исследованиях на добровольцах. В частности, изучены различные способы получения иммунных библиотек, в том числе и с применением методов пассивной иммунизации; способы амплификации генетических последовательностей, кодирующих вариабельные фрагменты неканонических иммуноглобулинов верблюдовых; роль различных оригинальных модификаций (димеризация мономеров специфических однодоменных антител, слияние с Fc-фрагментом иммуноглобулинов разных классов) в усилении терапевтической активности отобранных молекул антител, их фармакокинетики и иммуногенности в исследованиях на животных и клинических исследованиях на здоровых добровольцах.

В ходе выполнения исследования автором получен ряд вирусных и бактериальных мишеней, в том числе рекомбинантных антигенов вируса Эбола и SARS-Cov-2, токсина А *C.botulinum*, CROPS домена токсина В *C.difficile*, липид-ассоциированные мембранные белки (ЛАМБ) микоплазмы *M.hominis*; впервые получены оригинальные однодоменные антитела, обладающие высокой нейтрализующей активностью в отношении вирусов Эбола, коронавируса SARS-Cov-2, а также ботулотоксина типа А, токсина В *C.difficile* и микоплазмы *M.hominis*; разработан ряд оригинальных моделей оценки нейтрализующей активности полученных антител на культурах клеток и протективности на летальных моделях животных; изучены механизмы нейтрализации, а также роль различных модификаций (димеры, биспецифические антитела, Fc-фьюжн однодоменные антитела) для усиления нейтрализующей активности; на основе молекул или их комбинаций, обладающих наилучшей протективностью разработаны препараты для

клинического применения и в исследовании на добровольцах впервые были получены данные о переносимости, безопасности, фармакокинетики и иммуногенности неканонических антител верблюдовых, а также рекомбинантных модифицированных молекул на их основе.

Кроме того, с использованием ряда бактериальных мишеней автором был продемонстрирован и диагностический потенциал оригинальных однодоменных антител. Так, впервые показано, что молекулы однодоменных антител могут быть использованы для детекции токсина *C.difficile* методом плазмонного резонанса, а также проведены сравнительные исследования стабильности полученных биосенсоров, основанных на применении однодоменных антител и антител, имеющих каноническую структуру.

Практическая и теоретическая значимость

Результаты диссертационной работы без сомнения имеют большую теоретическую и практическую значимость и являются большим вкладом в разработку препаратов не только для борьбы с инфекциями, но и других заболеваний, для лечения которых можно использовать моноклональные антитела. Автором разработана технологическая платформа для создания и тестирования препаратов на основе однодоменных антител, позволяющая решать конкретные задачи в области контроля и терапии инфекционных заболеваний и которая продемонстрировала свою перспективность для разработки средств экстренной профилактики и этиотропной терапии на нескольких инфекционных моделях. В ходе проведения этапа разработки платформы автором впервые показана возможность использования метода пассивной иммунизации для получения иммунных библиотек неканонических антител; разработан ряд подходов к модификации (мультимеризация, получение Fc-фьюжн вариантов однодоменных антител) полученных однодоменных антител с целью увеличения их терапевтического потенциала, что позволило в десятки раз увеличить нейтрализующую активность антител; Разработан метод амплификации нуклеотидных последовательностей, кодирующих переменные участки неканонических антител с использованием оригинальных праймеров.

При этом, разработанные в ходе выполнения препараты на основе однодоменных антител в клинических исследованиях продемонстрировали низкую иммуногенность, длительную фармакокинетику, а также благоприятный профиль безопасности, что говорит о больших перспективах использования разработанной методологии в клинической практике.

На основе разработанной платформы автором получены 3 препарата, которые дошли до стадии клинических исследований. Это препарат для экстренной профилактики и этиотропной терапии инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, обладающий высокой нейтрализующей активностью, а также широким спектром нейтрализации различных вариантов вируса SARS-CoV-2, вызывающих опасение по классификации ВОЗ (VOC): альфа, бета, гамма, дельта и омикрон. В настоящее время завершены клинические исследования Фазы II «Открытое исследование безопасности и описания

параметров эффективности лекарственного препарата для экстренной профилактики и ранней этиотропной терапии коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, при однократном применении у пациентов с верифицированным диагнозом COVID-19». Препарат для экстренной профилактики и этиотропной терапии лихорадки Эбола, созданные на основе полученных моноклональных антител, обладающих нейтрализующей активностью в отношении вируса Эбола. Проведены доклинические исследования в полном объеме. В настоящее время завершены клинические исследования Фазы 1. Завершены доклинические исследования эффективности и безопасности препарата для терапии ботулизма на основе оригинальных однодоменных антител, обладающих высокой нейтрализующей активностью в отношении ботулотоксина токсина A *C.botulinum*. В 2024г начались клинические исследования безопасности и эффективности с участием добровольцев.

Кроме того, показано, что полученные с помощью платформы антитела могут быть использованы для разработки тест-систем для выявления инфекционных агентов. В частности, показана возможность использования однодоменных антител к токсину B *C.difficile* для разработки биосенсоров для детекции токсина *Clostridioides difficile* методом плазмонного резонанса. В сравнительном исследовании показана более высокая стабильность биосенсоров на основе однодоменных антител по сравнению с биосенсором на основе канонических антител за счет более высокой устойчивости к регенерации. Разработаны и утверждены ТУ, эскизный и технические проекты, а также проведены испытания тест-системы «Однодомен-Био» на основе разработанных биосенсоров.

При выполнении исследования были созданы и зарегистрированы две тест-системы: Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-RBD-ИФА-Гамалеи», для которого было получено регистрационное удостоверение на медицинское изделие №РЗН 2020/10393; Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 «ГAM-COVID-анти-RBD», для которого было получено регистрационное удостоверение на медицинское изделие №РЗН 2021/14488. Была создана тест-система «ОДНОДОМЕН-БИО» для индикации и идентификации патогенных биологических агентов на основе панели однодоменных антител на основе панели однодоменных антител, которая предназначена для специфической индикации и идентификации патогенных биологических агентов методом плазмонного резонанса. На тест-систему разработана техническая документация и успешно проведены технические испытания.

При выполнении исследования автором получены 9 патентов на изобретения. Результаты, полученные в ходе выполнения диссертации, используются в учебном процессе в составе лекционных курсов «Основы

молекулярной биотехнологии» и «Конструирование лекарственных и диагностических препаратов» кафедры биотехнологии и промышленной фармации ИТХТ им. М.В. Ломоносова, федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет», а также внедрены в учебный процесс подготовки научных и научно-педагогических кадров кафедры инфектологии и вирусологии Института профессионального образования Первого московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения РФ.

Достоверность экспериментальных результатов и сделанных на их основе выводов

Достоверность результатов исследования подтверждается многократным наблюдением, использованием корректных контролей и методов статистической обработки экспериментальных данных. Результаты экспериментов получены с использованием современных методов и качественных материалов и оборудования. Проверка статистических гипотез осуществлялась при 95%-ом уровне значимости ($p \leq 0,05$), используемом при проведении иммунологических и биотехнологических исследованиях.

Результаты диссертационной работы были представлены на 14 мероприятиях: 1) III Объединенный иммунологический форум (Нижний Новгород, 2013); 2) I Международная молодежная биотехнологическая школа-конференция «Биотехнология: от бактериофагов до вакцин» (Барнаул, 2014); 3) 19-ая Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2015); 4) Международный конгресс «Инновационные технологии в иммунологии и аллергологии» (Москва, 2015); 5) научная сессия НИЯУ МИФИ (Москва, 2015); 6) III Московский Конгресс кардиологов (Москва, 2021); 7) IX Научно-практическая конференция «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии», проведенной в рамках XI всероссийского фестиваля науки (Москва, 2021); 8) 45 Конгресс FEBS “Molecules of Life: Towards New Horizons” (2021, Любляна, Словения); 9) XI Ежегодная международная цифровая научно-практическая конференция «Аллергология-иммунология: от традиции к инновациям» (Москва, 2022г); 10) IX Всероссийская междисциплинарная научно-практическая конференция с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (г. Сочи, 2022); 11) I Российский конгресс по медицинской микробиологии и инфектологии (2023, Москва); 12) Первый Российский конгресс по медицинской микробиологии и инфектологии (РКММИ) (г.Москва, 2023г.); 13) второй Саммит разработчиков лекарственных препаратов «Сириус.Биотех» (г. Сочи, 2024); 14) VI Международная конференция ПОСТГЕНОМ’2024 (г. Москва, 2024).

Основные результаты диссертационной работы отражены в печати, в том числе, в 38 печатных работ, 26 из которых - в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации

основных научных результатов диссертации, а также 9 патентах РФ на изобретения.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ И ВЫВОДОВ, ПРИВЕДЕННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

Полученные результаты диссертационной работы Щеблякова Д.В. имеют большое значение для практической медицины и общественного здравоохранения в целом, а также для разработки средств терапии инфекционных заболеваний как вирусной, так и бактериальной этиологии с использованием однодоменных антител.

С целью повышения эффективности борьбы с потенциальными вспышками инфекции, вызванной вирусом лихорадки Эбола, а также снижения летальности при инфицировании рекомендуется внедрить в клиническую практику применение разработанного автором препарата ГамЭмаб для экстренной профилактики и этиотропной терапии инфекции, вызванной указанным вирусом.

Для эффективной борьбы с новой коронавирусной инфекцией, вызванной вирусом SARS-Cov-2, рекомендуется использовать основные результаты исследований при внедрении в клиническую практику препарата на основе нейтрализующих однодоменных антител для экстренной профилактики и этиотропной терапии инфекции, вызванной вирусом SARS-Cov-2.

Для повышения эффективности и безопасности терапии ботулизма рекомендуется внедрение в клиническую практику применение разработанного автором препарата на основе нейтрализующих однодоменных антител для экстренной профилактики и терапии интоксикации ботулотоксином типа А.

С учетом у набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-Cov-2 «ГАМ-COVID-анти-RBD» регистрационного удостоверения на медицинское изделие №РЗН 2021/14488, рекомендуется его использование для оценки напряженности иммунитета у переболевших COVID-19 или у пациентов после вакцинации.

Разработанные методические подходы и тест-системы идентификации микроорганизмов рекомендуется использовать в рутинной практике клинико-диагностических лабораторий.

Рекомендуется использовать полученные результаты при подготовке учебных материалов для обучения студентов и аспирантов профильных специальностей.

ЗАМЕЧАНИЯ И ВОПРОСЫ

При ознакомлении с основным содержанием диссертационной работы можно отметить следующие вопросы:

1. Автором указана отработка условий получения иммунных библиотек с различными фагами-помощниками, однако данных о сравнении эффективности их использования не приведены;
2. В ходе работы автором получен кандидатный препарат для борьбы с COVID-19. В каких случаях будет назначаться данный препарат при его потенциальном использовании?
3. Планируется ли получение однодоменных антител к ботулотоксину типа В и Е?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Щеблякова Дмитрия Викторовича «Разработка универсальной технологической платформы для создания средств терапии и диагностики инфекционных заболеваний на основе однодоменных антител», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям по специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки), 1.5.6. Биотехнология (биологические науки) является законченной научно-квалификационной работой, в которой автором решена задача разработки универсальной технологической платформы, позволяющей создавать препараты на основе однодоменных антител, направленных на борьбу с инфекционными заболеваниями человека и подтвердить потенциал ее использования на различных моделях.

Таким образом, диссертационная работа Щеблякова Дмитрия Викторовича «Разработка универсальной технологической платформы для создания средств терапии и диагностики инфекционных заболеваний на основе однодоменных антител». По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно п. 9-14 «Положение о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 и последующих редакций Постановлений Правительства РФ (включая N 415 от 18.03.2023, N 1786 от 26.10.2023, N 62 от 25.01.2024 и N 1382 от 16.10.2024), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Щебляков Дмитрий Викторович заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки), 1.5.6. Биотехнология (биологические науки).

Ведущая организация подтверждает, что соискатель не является ее сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Диссертация обсуждена, и отзыв на диссертацию одобрен на заседании кафедры фармакогнозии (протокол № 6 от «24» февраля 2025 года).

Диссертация обсуждена, и отзыв на диссертацию одобрен на заседании кафедры технология лекарственных форм (протокол № 7 от «24» февраля 2025 года).

Заведующий кафедрой фармакогнозии, доктор биологических наук (03.02.01 – биологические науки), доцент

Повыдыш Мария Николаевна

Заведующий кафедрой технологии лекарственных форм, доктор фармацевтических наук (15.00.01 – технология лекарств и организация фармацевтического дела), профессор



Флисюк Елена Владимировна

Подпись Повыдыш М.Н. заверяю.

Начальник отдела документации
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России
 И.Е. Павлюк

Подпись Флисюк Е.В. заверяю.



Начальник отдела документации
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России
 И.Е. Павлюк

«28» февраля 2025 года

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России)

197022, г. Санкт-Петербург, вн.тер.г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

Сайт: <https://spcru.ru>

Контактный телефон: (812) 499-39-00

Адрес электронной почты: rectorat.main@pharminnotech.com