



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

Российской академии наук (ИБХ РАН)

Стенограмма

заседания диссертационного совета Д 002.019.01 при ИБХ РАН

от 25 октября 2017 года

Защита диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук

**Харитоновой Марии Игоревны**

**Нуклеозиды бензимидазола: синтез и изучение свойств**

Специальность - 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Москва 2017

## СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 25 октября 2017 года.

Председатель диссертационного совета

академик РАН Иванов В.Т.

Ученый секретарь диссертационного совета

д. физ.-мат. н. Олейников В.А.

Из 30 членов совета присутствует 21 человек, из них докторов по профилю диссертации - 7.

- |     |                |                                  |            |
|-----|----------------|----------------------------------|------------|
| 1.  | Академик РАН   | Иванов Вадим Тихонович           | (02.00.10) |
| 2.  | Д.физ.-мат.н.  | Ефремов Роман Гербертович        | (02.00.10) |
| 3.  | Д.физ.-мат.н.  | Олейников Владимир Александрович | (03.01.06) |
| 4.  | Д.х.н.         | Арсеньев Александр Сергеевич     | (02.00.10) |
| 5.  | Д.х.н.         | Безуглов Владимир Виленович      | (03.01.06) |
| 6.  | Д.х.н.         | Бовин Николай Владимирович       | (03.01.06) |
| 7.  | Член-корр. РАН | Деев Сергей Михайлович           | (03.01.03) |
| 8.  | Д.х.н.         | Дзантиев Борис Борисович         | (02.00.10) |
| 9.  | Член-корр. РАН | Завриев Сергей Кириакович        | (03.01.06) |
| 10. | Д.б.н.         | Зарайский Андрей Георгиевич      | (03.01.03) |
| 11. | Д.б.н.         | Лебедев Юрий Борисович           | (03.01.03) |
| 12. | Академик РАН   | Мирошников Анатолий Иванович     | (03.01.06) |
| 13. | Д.х.н.         | Овчинникова Татьяна Владимировна | (02.00.10) |
| 14. | Д.б.н.         | Патрушев Лев Иванович            | (03.01.06) |
| 15. | Д.х.н.         | Румш Лев Давыдович               | (03.01.06) |
| 16. | Д.б.н.         | Сапожников Александр Михайлович  | (03.01.03) |
| 17. | Академик РАН   | Свердлов Евгений Давидович       | (03.01.03) |
| 18. | Д.х.н.         | Формановский Андрей Альфредович  | (02.00.10) |
| 19. | Член-корр. РАН | Цетлин Виктор Ионович            | (02.00.10) |
| 20. | Д.х.н.         | Шахпаронов Михаил Иванович       | (02.00.10) |
| 21. | Д.б.н.         | Шпаковский Георгий Вячеславович  | (03.01.03) |

**Иванов Вадим Тихонович**

Доброе утро, коллеги! Мне говорят, что кворум есть. И нет основания дожидаться положенных академических 5 минут, можно действовать. Тем более, что у нас сегодня сокращенная программа: одна защита в повестке дня. Нет возражений, чтобы приступить к делу? Нет. Речь идет о защите Харитоновой Марии Игоревны, кандидатской диссертации. Владимир Александрович, прошу начинать.

**Олейников Владимир Александрович**

Материалы личного дела (*зачитывает документы, содержащиеся в личном деле соискателя. Отмечает, что объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайте ВАК вовремя и все необходимые документы в деле есть*).

**Иванов Вадим Тихонович**

Есть ли вопросы? Нужно ли что-то уточнять? Не вижу таковых предложений! Тогда слушаем доклад, слово диссертанту - 20 минут доклад.

**Харитоновая Мария Игоревна, диссертант**

*(Излагает основные положения диссертационной работы).*

**Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо за доклад. Переходим к обсуждению, у кого есть вопросы? Николай Владимирович,

**Бовин Николай Владимирович**

Первый вопрос. У вас большая часть соединений, которые оказались наиболее успешными, не симметричны в отношении заместителей и только 5,6-дифтор производное симметрично и у него не образуется региоизомеров. А вы в своей работе направлены на практическое применение, то есть на масштабный синтез, как предполагается в индустрии разделение этих изомеров? Насколько это реально?

**Харитоновая Мария Игоревна**

Спасибо за вопрос. Действительно, на данном этапе исследования мы не делили изомеры. Однако мы видим региоизомеры как на ВЭЖХ, так и с помощью других физико-химических методов. И разделить их при помощи обращенно-фазовой хроматографии в принципе возможно. То есть надо просто правильно подобрать условия, и поскольку мы их видим, разделить их будет легко, когда такая задача будет стоять.

**Бовин Николай Владимирович**

Мой вопрос, как это будет делаться в промышленности, когда нужно будет килограммы и сотни килограммов разделять.

**Харитоновая Мария Игоревна**

До этого пока далеко, такое количество пока не получали. Предполагаю, что это также можно будет осуществить с помощью колоночной хроматографии, только с помощью более больших колонок.

**Бовин Николай Владимирович**

Второй вопрос. Вы в самом начале, во вступительной части обещали нам, что ваша работа будет основана на знании механизма действия вот этих соединений. Но потом в ходе уже самой работы ничего не сказали о том, как в выборе ваших соединений для синтеза опирались на знание механизма. Не могли бы Вы нас немного просветить.



### **Харитоновая Мария Игоревна**

Да, спасибо за вопрос. Я показывала на слайде, который сейчас как раз открыт, ациклические нуклеозиды, которые на данный момент как раз являются препаратами выбора для лечения цитомегаловирусных и других герпетических инфекций. Механизм действия всех этих соединений связан с двумя ферментами: ДНК-полимераза и тимидин киназа. Ациклические нуклеозиды обязательно должны фосфорилироваться, собственно поэтому их мишенью является тимидин киназа. А фоскарнет, ненуклеозидное соединение, связывается с ДНК-полимеразой и блокирует ее, то есть не позволяет нуклеотидам связываться с ней. Поскольку механизм всех этих соединений связан именно с этими двумя ферментами, то к соединениям развивается перекрестная резистентность, то есть если есть резистентность к одному препарату, то вполне может возникнуть резистентность и к другому препарату.

Нуклеозиды бензимидазола действуют на более поздних стадиях репликации вируса, они воздействуют на фермент, который называется терминаза. Этот фермент есть только у вируса, в клетках человека его нет. Он отвечает за элонгацию цепи ДНК и за встраивание ДНК в оболочку вируса. Соответственно механизм совершенно другой, перекрестной резистентности с препаратами первого выбора не возникает, поскольку мишенью является фермент терминаза, а не ферменты ДНК-полимераза и тимидин киназа. Кроме того, что перекрестной резистентности не возникает, и мишень другая, нуклеозиды бензимидазола менее токсичны, потому что их мишень находится только у вируса, и ее нет в человеческой клетке.

### **Иванов Вадим Тихонович**

У меня сходный вопрос. Скажите, когда вы выбирали объекты для синтеза, вы предположили, что полезно ввести в гетероцикл атом фтора. И если соединения с одним атомом фтора оказались не активны, здесь вы ожидали активность. Почему такой выбор был сделан, какие основания были, что такие соединения окажутся лучше? Что, фтор какими-то свойствами обладает? Почему не другие заместители?

### **Харитоновая Мария Игоревна**

Что касается атома фтора. Как я уже говорила, на настоящий момент активные нуклеозиды бензимидазола - это нуклеозиды у которых в молекуле в гетероцикле находятся галоген заместители. Поскольку соединения с бромом и с хлором уже были исследованы, то мы решили посмотреть, что будет с активностью нуклеозидов, если в них ввести атом фтора.

### **Иванов Вадим Тихонович**

То есть по аналогии с ранее изученными веществами, где был не фтор, а хлор или бром?

### **Харитоновая Мария Игоревна**

Да, совершенно верно.

### **Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо. Еще вопросы, пожалуйста.

### **Ефремов Роман Гербертович**

Позвольте, несмотря на предыдущие вопросы, спросить, известна ли пространственная структура ферментов, являющихся мишенью нуклеозидов с какими либо аналогами этих нуклеозидов, то есть была ли у вас какая-либо прогностическая модель, рациональная, на основании которой вы вводили атомы фтора и еще какие-то заместители? Или вы действовали по интуиции, основываясь на каком-то эмпирическом



знании, что сюда надо одно добавить, а сюда другое... Вот как работало ваше предсказание?

**Харитоновна Мария Игоревна**

Спасибо большое. Что касается модели... у нас модели не было. Мы основывались на литературных данных о проведенных до нас исследованиях. Вот на этих нуклеозидах бензимидазола (*показывает на слайд*), хлорированных и бромированных, проводились очень подробные исследования как раз с ферментами, на которые они действуют, и как они проявляют активность, да. Мы основывались именно на этих литературных данных.

Что касается введения атома фтора. Известно, что такие заместители, которые мы вводили ... что основания с такими заместителями точно входят в активный центр фермента пуриннуклеозидфосфорилазы, точно нет никаких стерических препятствий, и такие нуклеозиды могут быть синтезированы.

**Ефремов Роман Гербертович**

Откуда это известно? Известна пространственная структура?

**Харитоновна Мария Игоревна**

Конечно, пространственная структура пуриннуклеозидфосфорилазы известна. Структура фермента была давно изучена, до нас.

**Ефремов Роман Гербертович**

С лигандами?

**Харитоновна Мария Игоревна**

Да, в комплексе с различными лигандами. Конкретно мы этого не исследовали, потому что это уже исследовано.

**Иванов Вадим Тихонович**

Второй вопрос?

**Ефремов Роман Гербертович**

Это уже и был вопрос. Теперь комментарии. Обычно делают некую математическую модель, например, структура-активность, и сравнивают активность... Тем более у вас есть структура мишени... Можно было посмотреть не просто методом проб и ошибок, введение заместителей, а на рациональной основе. Сделать предсказательную модель, объяснить на структуре известных соединений и синтезировать новые. Потому что кроме фтора может быть можно много других заместителей ввести. Вот это не прозвучало.

И второй вопрос, вы сравнили активность синтезированных соединений с двумя соединениями, ацикловир и еще какое-то, которые использовались, как референс-соединения. А вот других, более активных соединений, сейчас не известно? Которые, более активны, чем синтезированные вами, предположим, в борьбе с этой вирусной инфекцией?

**Харитоновна Мария Игоревна**

Спасибо за второй вопрос. Мы все синтезированные нуклеозиды сравнивали с двумя референсными препаратами: это рибавирин и марибавир. Наиболее активное соединение, дифтор-2-амино-бензимидазола рибозид, мы сравнивали с другими активными соединениями. Я просто не приводила здесь эту табличку. Сравнивали с ацикловиром, цидофовиром и фоскарнетом, поскольку они являются препаратами выбора при лечении герпетических инфекций. И сравнивали с ними не только на эталонном штамме (на диком штамме вируса герпеса), но и на штаммах, устойчивых к различным препаратам. И в этих



расширенных исследованиях было определено, что наш препарат проявляет схожую активность как с ацикловиром, так и фоскарнетом, причем одинаково на всех резистентных штаммах.

Так что да, такие исследования, мы проводили по отношению к одному наиболее активному препарату.

**Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо. Есть ли еще вопросы? Да, прошу.

**Ямпольский Илья Викторович**

Вот у вас на этой табличке чего-то рибавирин и марибавир не действуют. Вроде бы не активны.

**Харитонов Мария Игоревна**

Спасибо. Значит, почему мы сравнивали с этими препаратами! Рибавирин является золотым стандартом, с которым вирусологи сравнивают все препараты антигерпетического действия. Он немного отличается по структуре, но тем не менее с этим препаратом всегда сравнивают. Почему мы выбрали марибавир. По литературным данным известно, что марибавир не активен в отношении вируса простого герпеса. Это соединение активно в отношении цитомегаловируса. Однако, поскольку рибавирин отличается по структуре от наших синтезированных нуклеозидов, вторым референсным препаратом мы использовали именно марибавир. Из-за близости его по структуре. И для того, чтобы подобрать правильные концентрации при исследовании.

**Ямпольский Илья Викторович**

Я все равно не понял, зачем надо сравнивать с тем, что не работает... У меня еще вопрос.

Слайд 26 покажите, пожалуйста.

*(Диссертант открывает слайд).*

**Иванов Вадим Тихонович**

Вы продолжаете вопрос, я не понял?

**Ямпольский Илья Викторович**

Да-да. Вот, например, соединения второе слева. Оно как-то может связываться с рибозой, у него есть для этого возможность? и первое соединение, у которого R равно H, у него есть чисто химические возможности связываться с рибозой? Валентность есть?

**Харитонов Мария Игоревна**

Чисто теоретически, по валентности, нет. Однако, можно было предполагать, что образование связи будет происходить, как в обнаруженном нами соединении, по аминокислотной группе, либо, например, может происходить раскрытие цикла.

Почему мы проверяли эти соединения? Наверно, предвосхищу сейчас ваш вопрос. Проверяли мы эти соединения на субстратную специфичность поскольку лаборатория наша уже давно занимается ферментами нуклеозидфосфорилазами. И были случаи, когда субстратами оказывались соединения, у которых никак нельзя было предположить субстратных свойств. И наоборот соединения, у которых не ожидали субстратных свойств, оказывались субстратами. Поэтому проверять и изучать мы стараемся все. Опять же, если бы эту серию мы проверяли, то не обнаружили бы вот этого необычного субстрата для пуриновых нуклеозидфосфорилазы. Кроме того эти соединения могли оказаться не только субстратами, но и ингибиторами. Поэтому была выбрана такая серия.



**Ямпольский Илья Викторович**

Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо. Прошу вопрос следующий.

**Коршун Владимир Аркадьевич**

У меня вопрос о противовирусной активности. Если с противогерпесной все хорошо, то про клещевой энцефалит результаты такие противоречивые. Вроде как активности нет... Или что это значит? Не было активности в концентрации меньше, чем цитотоксическая? Сформулируйте результаты по клещевому энцефалиту еще раз более внятно.

**Харитонов Мария Игоревна**

Спасибо. Что касается исследований активности на клещевом энцефалите: был проведен первичный скрининг, т.е. первичная проверка активности нуклеозидов к вирусу клещевого энцефалита. Исследования проводились в два этапа. На первом этапе были выявлены наиболее активные соединения. Но не угадали концентрацию, поэтому концентрации были уменьшены и был отобран некоторый пул нуклеозидов. Эти нуклеозиды исследовали более подробно с раститровкой концентраций в трех опытах. Обработывали клетки нуклеозидами до заражения, во время заражения клещевым энцефалитом и после. И соединения, которые представлены на слайде, это соединения, активные соединения, которые обладают способностью защищать клетки от литического действия клещевого энцефалита. Т.е. это наиболее активные соединения, которые проявили некую активность за несколько часов до обработки (т.е. сначала обрабатывали затем заражали клещевым энцефалитом). Поскольку исследования были только первичными, то вот для этих двух соединений, для этих кандидатов, требуются дополнительные исследования, и, возможно, какая-то корректировка дозы. Что касается цитотоксичности, все соединения показали низкую цитотоксичность. Следовательно, поэтому дополнительные исследования и можно проводить, поскольку все соединения обладают низкой токсичностью, а активность нужно уточнять.

**Иванов Вадим Тихонович**

Есть еще вопросы?

**Завриев Сергей Кирикович**

У меня даже не вопрос, а комментарий. А что значит, обрабатывать до инфекции - это получается как бы вакцинация? Смысл какой в этом? Если бы это давало какое-то объяснение молекулярным механизмам защиты... Это понятно... У вас таких данных нет... А с точки зрения того, что нам применять условно препарат до того как произошла ... это называется уже вакцинация?

**Харитонов Мария Игоревна**

Профилактика, да...

**Завриев Сергей Кирикович**

Ну профилактика. А смысл в чем?

**Харитонов Мария Игоревна**

Смысл в профилактике какой? или в проведенных исследованиях?

**Завриев Сергей Кирикович**

В смысле понять механизм действия это все равно не дает возможности, да?



## **Харитонов Мария Игоревна**

Эти исследования были направлены не на выявление механизма действия, а на выявление активных кандидатов для дальнейшего исследования. Просто проводились три опыта. Эти исследования проводились *in vitro*. Клетки, клеточный монослой, обрабатывали препаратами до заражения вирусом клещевого энцефалита.

## **Иванов Вадим Тихонович**

Это можно назвать вакцинацией, наверно... Просто механизм не стимуляция антител, а что-то другое.

Все. Еще есть вопросы? Нет. Вопросы похоже иссякли.

Спасибо. Отдохните немного. Переходим к заслушиванию отзывов. Отзыв ведущей организации.

## **Олейников Владимир Александрович**

*(Зачитывает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается).*

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева». Отзыв полностью положительный.

Нуклеозиды бензимидазола относятся к группе неприродных нуклеозидов, обладающих селективной противовирусной активностью в отношении цитомегаловируса и вируса простого герпеса. К промышленно выпускаемым препаратам для лечения инфекций, вызванных этими вирусами, со временем часто развивается резистентность, и эффективность терапии снижается. Поэтому является актуальным поиск новых противовирусных средств, отличных от существующих по механизму действия и обладающих меньшим числом побочных эффектов.

Поэтому целью диссертационной работы явилась разработка химико-ферментативного синтеза новых модифицированных нуклеозидов бензимидазола с помощью генно-инженерных ферментов нуклеозидфосфорилаз, что позволяет упростить процесс получения и выделения целевых соединений, повысить его эффективность и экологичность.

Для достижения поставленной цели автором был выполнен значительный объем теоретических и экспериментальных исследований по следующим основным направлениям. Здесь перечисляются основные направления синтеза.

Научная новизна проведенных исследований состоит в получении новой информации о субстратной специфичности пуриннуклеозидфосфорилазы *E. coli*, функционировании активного центра фермента, получении первичных данных *in vitro* о противовирусной и противоопухолевой активности синтезированных нуклеозидов бензимидазола.

Теоретическая значимость работы состоит в определении критериев субстратной специфичности пуриннуклеозидфосфорилазы по отношению к модифицированным бензимидазолам.

Практическая ценность работы заключается в разработке и оптимизации универсального метода биосинтеза нуклеозидов бензимидазола, отличающегося высокой воспроизводимостью, возможностью масштабирования в условиях промышленного производства. Перечисляется, где могут быть использованы результаты диссертационной работы. Перечисляется, что исследования по теме диссертации выполнены на современном научном уровне с использованием современных физико-химических методов.



По результатам диссертационной работы опубликовано четыре статьи в научных журналах. Автореферат по структуре и содержанию соответствует содержанию диссертации.

К недостаткам работы следует отнести следующие.

- Актуальность и цель работы, приведенные во введении к диссертации и в автореферате различаются по содержанию.

- Размещение раздела «Материалы и методы» в конце работы затрудняет ее восприятие. Целесообразнее было бы поместить его после раздела «Литературный обзор».

- Автор в конце каждого подраздела главы «Обсуждение результатов» приводит библиографические данные работ, в которых опубликованы изложенные в подразделе результаты исследований. Желательно было бы поместить соответствующие ссылки в общий список литературы, а по тексту диссертации дать их номера.

- На некоторых рисунках, в частности, рис. 11,12, 33 и др. на оси ординат указано значение степени конверсии в 105 %, которое реально не может быть достигнуто.

- На стр. 69 автор отмечает: «β-D-арабинозиды бензимидазола, образующиеся в активном центре фермента, являются его ингибиторами.». Не ясно, каким образом, за счет каких реакций происходит образование данных соединений в активном центре, и что автор под этим понимает.

- В работе встречаются таблицы (например, 4; 13), в которых приведены физико-химические свойства синтезированных нуклеозидов. Однако, никаких выводов по этим таблицам автор не приводит. Не ясно, для чего эти характеристики определялись. Логично было бы провести сравнение с имеющимися аналогами полученных препаратов.

- В разделе 1 главы «Литературный обзор» дано подробное описание свойств, противовирусной, противоопухолевой активности и структуры известных нуклеозидов бензимидазола, позволяющее сделать выводы о текущем состоянии исследований и проблемах в данной области. Однако материал представлен, как простое перечисление фактов, что существенно затрудняет восприятие. Вероятно, стоило бы привести здесь классификацию нуклеозидов бензимидазола, например, по типу заместителя, активности и т.п. и выявить общие закономерности связи строения соединения с его свойствами.

Отмеченные недостатки не являются принципиальными и не снижают высокого уровня научной, теоретической и практической значимости диссертационной работы.

Диссертационная работа Харитоновой Марии Игоревны соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении ученых степеней", а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Отзыв на диссертацию рассмотрен и утвержден на заседании кафедры биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева. Подписано профессором В.И. Панфиловым и профессором А.А. Красноштановой. Утвержден и.о. ректора Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева» А.Г. Мажугой.

**Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо. В отзыве были некоторые замечания. Наверное, Марии Игоревне стоит на них ответить?

**Харитоновая Мария Игоревна**

Спасибо большое сотрудникам организации за отзыв. Отвечаю на замечания. Что касается актуальности, целей и задач исследования. В автореферате согласно ГОСТу эти



подпункты должны быть строго регламентированы, находиться в определенном порядке и излагаться кратко и точно. Что касается этих подпунктов в самой диссертации, то, конечно, они также должны быть раскрыты, но раскрываются они во введение более свободно и распространенно, собственно как у меня и было сделано.

Размещение раздела материалы и методы. Сотрудники ведущей организации рекомендуют его ставить сразу же после литературного обзора. Считаю, что это не очень правильно, по крайней мере что касается моей работы. Поскольку если разместить раздел Материалы и методы, который является вспомогательным, сразу же после Литературного обзора, на мой взгляд, это затруднит восприятие диссертации.

В конце каждого подраздела в обсуждение результатов мы действительно приводили ссылки на наши работы, в которых был опубликован материал по диссертации. Делали мы это поскольку существует правило, что большая часть диссертационной работы обязательно должна быть опубликована. Для того, чтобы было удобно воспринимать, что это требование действительно было соблюдено, поэтому мы и приводили ссылки в каждом подразделе в конце. Однако эти ссылки на эти работы входят в общий список литературы.

На некоторых рисунках действительно значение оси было 105, однако, это не значение конверсии, а значение именно оси ординат. Это связано с тем, что конверсия в нашем синтезе очень часто приближалась к значению 100, и поэтому программа Excel просто автоматически выставляла значение 105. Я старалась за этим следить, но, к сожалению, не везде уследила.

Про арабинозиды бензимидазола. Арабинозиды бензимидазола были синтезированы, также как и другие нуклеозиды, с помощью реакции ферментативного трансгликозилирования. Поскольку мы предположили, что арабинозиды бензимидазола являются ингибиторами фермента, именно поэтому в реакциях арабинозилирования продуктов, т.е. арабинозидов бензимидазола, не было обнаружено.

Что касается таблиц. Физико-химические характеристики всегда и обязательно приводятся в работе для подтверждения того, чтобы в принципе было понятно, что соединение было выделено, что оно чистое, что оно охарактеризовано. Поэтому мы их и привели. Какие выводы еще можно сделать из таблиц о физико-химических свойствах я не знаю.

Что касается литературного обзора. Позвольте мне здесь в принципе не согласиться с замечанием. Потому что литературный обзор как раз был четко структурирован. Два раздела: это противовирусная и противоопухолевая активность. И в каждом из этих разделов информация делилась также на заместители по кольцу бензимидазольному и заместители по углеводному остатку. И плюс все усложнения, т.е. введение различных заместителей и радикалов, давались по усложнению структуры и в хронологическом порядке.

**Иванов Вадим Тихонович**

Все у вас? Спасибо. Анатолий Иванович, вы можете охарактеризовать диссертанта.

**Мирошников Анатолий Иванович**

Уважаемые коллеги, как видно из биографии, Маша была фармацевтом. Мы надеялись, что в нашей лаборатории будет человек с фармацевтическим образованием, потому что есть некоторые чисто формальные вещи, которые необходимы для человека, обладающего фармацевтическим образованием. Ну Маша сразу прямо сказала, что хочет заниматься биотехнологией и только биотехнологией. И в общем-то должен отдать ей должное, что она упорно и настойчиво этими биотехнологическими методами овладевала.



Что я еще хочу сказать! Конечно то, что Мария Игоревна сейчас доложила – это только часть работы. Лаборатория занимается гораздо большим количеством ферментов, это не только нуклеозидфосфорилазы, это и киназы, и мутазы. И в ответ может быть Ефремову: да, у нас есть рентгено-структурный анализ, но это другая часть работы, которой занимается Есипов и вместе с институтом кристаллографии, вместе с ингибитором уже работают. Так что это только часть работы. А что касается синтеза, нам, конечно, повезло, что мы очень подружились с Институтом органического синтеза, лабораторией академика Чарушина, который может вводить атом галоида в любое положение, и естественно у нас были бы тут трудности в получение такого ряда соединений. Поэтому часть работ, которая была сделана, была сделана целенаправленно, а часть – то, что было в лаборатории Института органического синтеза. Поэтому мы может быть не так целенаправленно разделяли работу, проверяли то, что было для нас синтезировано. В общем-то Маша вполне созрела и, конечно, она кандидат наук, спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо. Ну это голосование покажет. Значит дальше у нас отзывы на автореферат. И, кажется, они есть.

**Олейников Владимир Александрович**

Да, в нарушение традиции последнего времени – отсутствия отзывов на автореферат, к данной работе проявлен огромный интерес. У меня на руках целых четыре отзыва, которые поступили в наш диссертационный совет. Все отзывы положительные.

*(Зачитывается первый отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается).*

Типичная фраза: полученные автором результаты открыли перспективу как для получения новых нуклеозидов, модифицированных по нуклеиновым основаниям, так и для расширения возможности воздействия на герпесвирусную инфекцию человека.

И подписано даже не одним специалистом: подписали Дерябин Петр Григорьевич – зам. Директора по науке подразделения Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, профессор, доктор медицинских наук, затем доктор биологических наук Галегов Георгий Артемьевич – руководитель лаборатории химиотерапии вирусных инфекций подразделения и ведущий научный сотрудник лаборатории химиотерапии, кандидат биологических наук Андропова Валерия Львовна.

*(Зачитывает второй отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается).*

Еще один отзыв, отзыв также положительный, интересно, что отзыв содержит замечания, я их зачитаю: автору, к сожалению, не удалось преодолеть один из основных недостатков трансгликозилирования – необходимость осуществления процесса в разбавленных растворах, что в определенной степени, ограничивает практическую применимость результатов диссертационной работы; автор допускает неточности в использовании номенклатуры IUPAC, так согласно рекомендациям 2013 года, радикалы в соединениях 6 и 7 должны называться морфолин-4-ил (но не морфолино, см. также 16) и пирролидин-1-ил, а соединение 23 следует назвать ... дальше следует название. В тексте автореферата встречаются опечатки, например на стр. 9 и 18 после «однако» почему-то поставлена запятая, но в пяти других случаях она отсутствует. Надо сказать, что автором получены новые нуклеозиды с различными заместителями, самостоятельное значение имеет раздел работы, посвященный изучению реакции трансгликозилирования кислород- и серосодержащих аналогов, и т.д. Значит это отзыв подписан советником генерального директора ПАО «Фармсинтез», к.х.н. Поплавским Вячеславом Сергеевичем и начальником отдела фармацевтических разработок той же фирмы, к.х.н. Щербининым М.В.



*(Зачитывает третий отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается).*

Следующий также положительный отзыв. Опять же при прочтении автореферата возник ряд вопросов: говоря о практической значимости, автор указывает на возможность масштабирования методики получения аналогов нуклеозидов на основе бензимидазолов и возможности внедрения на опытном производстве промышленных предприятий. Однако в тексте автореферата обсуждается синтез в загрузках 50 – 70 мг, предусматривающее к тому же хроматографическое выделение целевых продуктов. Проводились ли какие-то реакции на граммовых загрузках? Изменяется ли степень конверсии при масштабировании синтеза? Это вопрос. Второе: чем можно объяснить преобладание N-1 изомеров аналогов нуклеозидов в описанных реакциях. Из замечаний можно выделить следующие: в автореферате отсутствуют таблицы, посвященные активности бензимидазол содержащих аналогов нуклеозидов в отношении ацикловир- и фоскарнет-резистентных штаммов вируса простого герпеса, а также активность полученных соединений в отношении вируса клещевого энцефалита. Второе: диссертанту не удалось провести реакцию трансгликозилирования с использованием незамещенных бензоксазола, бензотиазола и бензотиадиазола. Это представляется очевидным, структуры соединений 59, 61, 63 содержат третичный атом азота, который не может участвовать в образовании полуаминалей вследствие локализации связи C=N и отсутствия таутомерных переходов в отличие от соединений 60 и 62, имеющих свободную аминогруппу в положении 2. Третье: зависимость конверсии от времени на рис. 9а не согласуется с зависимостью на рис. 9б. В автореферате присутствует небольшое количество опечаток, допущены пропуски в нумерации соединений. В табл. 1 препаративный выход соединения 9 превышает конверсию по данным ВЭЖХ – 94 и 86 %, соответственно. Отмеченные недостатки не снижают общей высокой ценности работы, метод использования трансгликозилирования в скрининге фармакологически активных соединений представляет высокий научный интерес и несомненную практическую ценность. Институт органического синтеза имени И.Я. Постовского, Уральское отделение РАН, г. Екатеринбург. Зав. лаб. асимметрического синтеза, профессор, д.х.н. – Краснов В.П. и научный сотрудник той же лаборатории, к.х.н. – Груздев Д.А.

*(Зачитывает четвертый отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается).*

И, наконец, последний отзыв на автореферат диссертации Харитоновой М.И., также здесь много хороших положительных слов. Но, опять же, замечания. Значит, к замечаниям, не влияющим на общую положительную оценку представленной работы, можно отнести следующее: автор пишет о том, что разработанные методики синтеза нуклеозидов хорошо воспроизводятся и легко масштабируются и могут быть внедрены как в лабораторной практике для получения небольших партий модифицированных нуклеозидов, так и на опытно-промышленных предприятиях биотехнологического профиля. Однако, в автореферате приведены данные о наработке миллиграммовых количеств нуклеозидов (35-87 мг). На основании этих экспериментальных данных сложно сделать вывод о легкости масштабирования ферментативных процессов. Имеющиеся замечания не снижают общей высокой ценности работы, а сам диссертант заслуживает... подписано доцентом кафедры биоорганической химии биологического факультета МГУ Есиповым Д.С.

Вот все четыре отзыва.

**Иванов Вадим Тихонович**

В отзывах были замечания. Можно либо согласиться, либо поспорить. Хорошо бы, чтобы мы поняли вашу реакцию.

**Харитоновая Мария Игоревна**



Спасибо всем организациям и сотрудникам за предоставленные отзывы на мою работу. С техническими замечаниями я, конечно же, согласна. Разрешите мне отвечать на все отзывы сразу, поскольку я не помню, в каком они были порядке... Был вопрос про масштабирование. Да, действительно, в работе, которую я сегодня представляла, я говорила о не очень больших загрузках и не очень больших количествах наработанных нуклеозидов. Так почему же мы можем говорить о масштабировании и о том, что масштабирование может быть достаточно легко проведено? Во-первых, мы основываемся на том, что в нашей лаборатории уже были получены опытные партии других нуклеозидов, например, таких как неларабин, флударабин (противоопухолевые нуклеозиды) также с использованием ферментов нуклеозидфосфорилаз и эти соединения были получены партиями больше 100 г. Кроме того, для наиболее активного нуклеозида бензимидазола (дифтор,амино-), о котором я говорила в своей работе, также уже было проведено масштабирование и где-то в 10-15 раз, была увеличена загрузка и в результате было получено полтора грамма целевого соединения с такой же хорошей конверсией и с таким же прекрасным выходом. Единственное, при таком масштабировании (где-то в 10-15 раз) немножко увеличивается время синтеза, где-то на 1-2 суток. Т.е. действительно мы можем говорить, что методика может быть масштабирована.

Какие там еще были вопросы... Так, Фармсинтез о том, что реакции протекают в разбавленных растворах. Да, действительно, реакции трансгликозилирования получения нуклеозидов бензимидазола проводили в разбавленных растворах. Это связано с тем, что исходные основания (модифицированные бензимидазолы) не очень хорошо растворяются в воде, именно в такой разбавленной концентрации проводились реакции. Однако сейчас перед нами не стоит задача наработки килограммовых партий. На данном этапе это абсолютно не мешает. Когда будет стоять такая задача наработки нескольких килограммов, то мы обязательно подумаем, как можно с этой проблемой бороться. Способы такие существуют. И я уверена, что мы что-нибудь придумаем.

Что касается нетипичных оснований. Мне уже задавали этот вопрос... бензоселенодиазолы, тиазолы... возможно ли было получить нуклеозиды по реакции ферментативного трансгликозилирования. Кратко очень повторю, что мы стараемся в нашей работе проверять все интересные основания, поскольку опыт очень обширный у лаборатории с различными соединениями. Кроме того, еще раз отмечу, что если бы мы не провели исследования на этой серии соединений, то нам не удалось бы обнаружить, что в реакции с аминоксозолом образуется такой интересный продукт, пиранозид, выделить его, охарактеризовать и т.д. Кроме того, остальные соединения вполне могли оказаться ингибиторами.

Вроде все. Остальные замечания – технические. С ними я согласна.

**Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо, переходим к слушанию отзывов официальных оппонентов. Сергей Николаевич Михайлов, доктор химических наук, Институт молекулярной биологии.

**Михайлов Сергей Николаевич**

*(Излагает отзыв. Отзыв положительный, отзыв прилагается).*

К настоящему времени на основе нуклеозидов создано около ста лекарственных препаратов, это сейчас один из наиболее значимых классов природных соединений в медицинской химии... Для их получения используется многостадийный химический синтез, во многих случаях ключевой стадией лекарственных препаратов является образование N-гликозидной связи. В последние годы разрабатываются ферментативные методы синтеза нуклеозидов, заключающиеся в использовании нуклеозидфосфорилаз и других ферментов. Нуклеозидфосфорилазы – хорошо изученные ферменты, этот класс



ферментов состоит из тимидинфосфорилазы, уридинфосфорилазы и пурипнуклеозидфосфорилазы. Значит, приведу такие цифры, что по данным Google Scholar к настоящему времени опубликовано около 3500 статей, в названии которых содержится одна из нуклеозидфосфорилаз, т.е. это может быть одни из наиболее популярных ферментов в биохимии. Значит... начну с наиболее специфичного фермента – тимидинфосфорилазы. Этот фермент участвуют в дополнительном пути биосинтеза нуклеозидов и может осуществлять фосфоролиз тимидина и 2'-дезокситимидина. У него специфичность очень узкая. Уридинфосфорилаза может осуществлять фосфоролиз как рибо- так и 2'-дезоксирибонуклеозидов. Наименее специфичный фермент – это пурипнуклеозидфосфорилаза, которая может осуществлять фосфоролиз рибо- и дезоксирибо- ряд пуриновых нуклеозидов, но, и как видно из настоящей работы, производных бензимидазола, имидазола, триазола и других гетероциклических соединений, которые не сильно похожи на пурин. Т.е. специфичность достаточно широкая. И это качество пурипнуклеозидфосфорилазы часто используется в практическом синтезе нуклеозидов.

Целью работы, как я уже сказал, являлся синтез производных бензимидазола. Это интересный класс нуклеозидов. Хотя по своей структуре они не очень похожи, но все соединения, которые имеют N-гликозидную связь, по традиции называют нуклеозидами. Также и бензимидазолы могут относиться к этому классу соединений. Хотя успехи химии ограничиваются в этом классе, приведенным на слайде марибавиром, интересен к этому классу соединений представляется огромным. Уже на протяжении 50 лет работают с этим классом и находят все новые и новые соединения. И данная работа не является большое количество новых соединений получено, в ходе работы, сразу остановлюсь, было синтезировано 22 новых соединения, структура которых убедительно охарактеризована современными физико-химическими методами.

В работе осуществлен синтез большой группы соединений бензимидазола, как рибо- так и дезоксирибо- производных. Работа построена по традиционному способу, достаточно объемная, 144 стр.: введения, обзора литературы, обсуждения собственных результатов и описания экспериментов. Приложения, что очень хорошо, что меня очень порадовало, что в общем-то редко приводится в химических работах, - спектры ЯМР. Когда смотришь на спектры ЯМР, сразу видна чистота, как хорошо была проведена работа. Здесь собственно все спектры хорошие, главное, что они очень хорошо отнесены. И вот, например, когда я вижу, что отсутствуют спектры ЯМР, значит, у меня возникают сразу сомнения. Ведь сейчас большая часть журналов публикует спектры в приложениях и видно насколько хорошо работает рецензирование, поскольку всегда начинаешь с просмотра спектров ЯМР, потому что все примеси видно как на ладони, и насколько хорошо работает человек, тоже видно.

Так. Литературный обзор посвящен нуклеозидам бензимидазола, это химический синтез, биологическая активность, где детально рассмотрены свойства этой группы соединений. Здесь уже отмечалось, какие основные успехи диссертанта. Мне работа очень понравилась потому что она решает несколько, на мой взгляд, важных задач: это получение 4,6-дизамещенных и 4,5,6-тризамещенных бензимидазолов как рибо- так и 2-дезоксирибо- рядов; также была проведена оптимизация ферментативного синтеза ряда бензимидазолов; показано, что C2-амино-5,6-дизамещенные бензимидазолы являются субстратами ПНФ; результате ферментативной реакции синтеза нуклеозидов бензимидазола образуется смесь N1-N3 региоизомеров, в ряде случаев наличие объемных заместителей приводит к образованию N3-изомера; показано, что пурипнуклеозидфосфорилаза E. coli способна осуществлять реакции гликозилирования по экзоциклической 2-амино-группе бензоксазола, с образованием соответствующих пиранозид 2-аминобензоксазола. Происходит перегруппировка, она хорошо известна в литературе. Как я уже говорил в ходе работы синтезировано 22 новых соединения и



изучена противовирусная активность нуклеозидов, я так понимаю, в Институте вирусологии, и показано, что некоторые производные бензимидазола обладают высокой активностью в отношении вируса герпеса 1-го типа.

В своей диссертационной работе Харитонов М.И. продемонстрировала хорошее владение современными методами биоорганической химии и физико-химического анализа.

Теперь я, наверно, коротко остановлюсь на замечаниях. Я приготовил один слайд. Я оцениваю работу очень хорошо. Но почему хорошо, а не отлично, сейчас объясню. Значит, работа очень объемная, в ней не хватает только анализа реакции...

Что бы мне хотелось видеть... Что такое реакция трансгликозилирования? Думаю, что все это хорошо знают! Работа в лаборатории Анатолия Ивановича проходит уже на протяжении более 15 лет... Вот схема, 1 стадия – перенос углеводного остатка с одного нуклеозида на другой, первая стадия – это фосфоролиз, в результате получается  $\alpha$ -D-рибофуранозо-1-фосфат или  $\alpha$ -D-(2-дезоксир)рибофуранозы-1-фосфат. Этот дезоксирибозы-1-фосфат является субстратом для других оснований. Происходит замена одного гетероцикла на другой. Эта реакция обратима, равновесие смещено в сторону образования нуклеозида. Значит, реакция равновесная, в реакции участвуют 6 компонентов... Чтобы достичь аксимального выхода нужно достичь равновесия реакции. Вот этого, к сожалению, в описании реакции трансгликозилирования я не обнаружил в диссертации. Это первый момент. Теперь, что следует из этой схемы. Из этой схемы следует, что концентрация фосфата для достижения максимального выхода нуклеозида должна быть минимальной, но с другой стороны достаточной, чтобы равновесие устанавливалось быстро. В работе используется фосфатный буфер, возникает вопрос зачем. Достаточно примерно одного эквивалента фосфата, потому что увеличивая концентрацию фосфата, уменьшаете выход... Из этого следует, что увеличивая концентрацию второго основания, вы увеличиваете выход продукта. Увеличивая концентрацию нуклеозида, вы тоже увеличиваете концентрацию продукта. Из этих схем следует несколько важных выводов: если реакция равновесная, нужно определить константу равновесия. Это достаточно просто делается... Во всех случаях константа равновесия смещена в сторону образования нуклеозида. Почему реакция трансгликозилирования проводится с пиримидинов на пурины, а не наоборот (*показывает на слайде*). Поэтому если вы возьмете соотношение 1:1, то получите выход – 50 %, теоретически. С пиримидина на пурин будет выход около 70 %.

Такие вот у меня общие замечания: что хотелось бы видеть в подобных работах. Не буду останавливаться на достаточно мелких замечаниях... Думаю, что учитывая большой объем работы, хорошие публикации, я могу сказать, что эта работа безусловно достойна присуждения искомой степени, а Мария Игоревна - присвоения степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

**Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо. Мария Игоревна, вам слово для защиты.

**Харитонов Мария Игоревна**

Спасибо Сергею Николаевичу за отзыв и за замечания. Как отметил Сергей Николаевич, действительно, модифицированные бензимидазолы оказались хорошими субстратами для пуриннуклеозидфосфорилазы. Причем конверсия в среднем для синтеза рибозидов и дезоксирибозидов тризамещенных нуклеозидов бензимидазола была выше 90 %. Целью моей работы являлась адаптация реакции трансгликозилирования для синтеза нуклеозидов, причем желательно было получить как можно большее число новых



соединений для выявления перспективных кандидатов с противовирусной или противоопухолевой активностью. Такое подробное изучение реакции ферментативного трансгликозилирования, безусловно, является очень интересным, однако, в большей степени оно интересует исследователей, которые занимаются напрямую исследованием ферментов, структуры, активного центра, субстратной специфичности. Моя работа более практической направленности. Конкретно разделить во время синтеза эти два шага (*показывает на слайд*) было не очень просто, чтобы на каждом этапе отдельно померить константы. Теперь после того, как мы синтезировали большое количество нуклеозидов бензимидазола, теперь у нас есть библиотека соединений, и мы, конечно же, померяем константу равновесия, опубликуем эту информацию и, я надеюсь, она внесет какой-то новый вклад в информацию о субстратной специфичности пуриннуклеозидфосфорилазы. Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо. Теперь переходим ко второму официальному отзыву: Михаил Васильевич Чудинов, к.х.н., Московский технологический университет..

**Чудинов Михаил Васильевич**

*(Излагает отзыв. Отзыв положительный, отзыв прилагается)*

Поскольку я самый последний, буду краток. Большую часть про содержание и актуальность было сказано неоднократно, я на этом останавливаться не стану, потому что это все правда. Работа очень хорошая, в хорошем смысле мультидисциплинарная: есть и биотехнология, и биоорганическая, и медицинская химия, - все это вместе и в достойном объеме, слито в единую, на мой взгляд, цельную и гармоничную работу.

Поскольку я по большей части химик, хоть и работаю на кафедре биотехнологии, хотел бы привести несколько замечаний общего характера, именно с точки зрения химии. То замечание по поводу нетипичных оснований мы неоднократно здесь уже вспоминали, и Мария Игоревна, на мой взгляд, вполне достойно ответила на вопрос почему же соединения, которые не могут образовывать гликозидную связь, были опробованы. Есть такие вещи, такой романтический взгляд у автора, широкими мазками рисуются механизмы, и это, на мой взгляд, немного смело. Механизм с перегруппировкой пиранозидов: а почему так? Хорошо, мы можем сослаться на литературу, но этой литературе лет сорок, хоть в ней и действительно все описано. И тогда это не было доказано, и сейчас, в этой работе, нельзя сказать, что механизм доказан. С другой стороны доказательство любого из механизмов, конечно же, не является предметом данной диссертации, это точно выходит за рамки, это работа другого объема и другого направления. Хотелось бы пожелать автору в будущем делать...я понимаю, что хочется широких мазков и красивых картинок... но надо быть немного более ответственным. Еще с точки зрения химика некоторые вещи производят впечатление недоделанности. Есть в диссертации раздел по химическому синтезу аналога марибаира. Видно, что проведена была большая работа, но не получилось. Получилось другое соединение, оно охарактеризовано, да, структура доказана, оно может быть действительно любопытным. Но почему-то автор не делает последний шаг, т.е. из того, что у него получилось, очевидно, что делать дальше. Это очевидно химику, остался последний шаг, который почему-то не сделан. И это немножко досадно. Понятно, что нельзя все вложить в работу. При этом работа безусловно очень большая, очень хорошая, Мария Игоревна безусловно заслуживает, на мой взгляд, присуждения искомой степени кандидата химических наук. Это все, желаю ей дальнейших успехов. Другие замечания у меня технические, опечатки и т.д. – это не интересно.



**Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо. Мария Игоревна, прошу ответить на замечания.

**Харитонов Мария Игоревна**

Спасибо Михаил Васильевичу отзыв и за замечания. Что касается вопроса про перегруппировку фуранозида в пиранозид 2-аминобензоксазола. На слайде представлены статьи как раз на которые мы ссылаемся. Это действительно достаточно удаленные по времени статьи, тем не менее авторы описывают перегруппировку фуранозидов в пиранозиды в водном растворе, которая происходит во времени. Авторам этих работ в отличие от нас удалось зафиксировать структуру обоих нуклеозидов, они доказали с помощью ЯМР как структуру фуранозида, так и пиранозида. Действительно доказательство какого-либо из механизмов перегруппировки не являлось целью моей работы, поэтому мы ссылались на эти статьи. Единственное, что мы можем точно сказать, с уверенностью о данном синтезе, что точно в растворе образовывались фуранозиды, хоть мы их и не смогли обнаружить, поскольку реакция ферментативная и данный фермент может синтезировать только фуранозиды. Следовательно, фуранозиды были и они перегруппировывались в пиранозиды. Механизм требует отдельного исследования. Кстати говоря, рисунок, приведенный на другом слайде, это рисунок из нашей статьи, опубликованной в Chem. Eur. J., с достаточно хорошим импакт фактором.

Звучало еще такое замечание или пожелание о химическом синтезе аналогов марибавира. Действительно, в презентации я об этом не говорила, в работе такой раздел есть, мы пытались химически синтезировать фторированный аналог марибавира. Синтезировать его не удалось, однако соединения, синтезированные на промежуточных этапах, оказались очень интересными (тоже нуклеозиды) и мы хотим исследовать их на противовирусную активность.

**Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо. Мы завершили рассмотрение официальных отзывов. Нам остается провести общую дискуссию. Кто хотел бы поделиться впечатлениями? Прошу.

**Формановский Андрей Альфредович**

Я очень хорошо знаком с этой работой, потому что летом представлял ее к защите на совет. Несколько замечаний в порядке дискуссии, в первую очередь с Романом Гербертовичем, о том, что надо сделать модель, посмотреть, как фермент встраивается в субстрат, а потом, исходя из этого, выбирать заместители, которые мы хотели бы там видеть. По моему многолетнему опыту с такими моделями, предсказательная ценность их ничтожна! Это первое, о чем я хочу официально заявить с трибуны. Во-вторых, мы все прекрасно знаем, что атом фтора изостерен атому водорода, и в пространстве занимает ровно такое же место. Поэтому выбор дифтора и полифторзамещенных производных бензимидазола абсолютно оправдан, потому что кардинально мы не меняем структуру субстрата, пространственно она остается такой же. Да, появляются новые электронные свойства, но пространственно она абсолютно такая же. В сущности, наверно, все.

На мой взгляд работа очень хорошая, грамотно поставленная и классно совершенно выполненная. И, безусловно, Мария Игоревна, на мой взгляд, заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук. Спасибо.

**Ефремов Романом Гербертович**

Уважаемые коллеги, не хотелось втягиваться в дискуссию, но, поскольку, процесс пошел, то надо отвечать. Для начала, чтобы понять, на сколько влияет или будет важен заместитель или нет, следовало бы показать структуру активного центра, как там размещается близкий по структуре лиганд... Тогда можно было бы может понятно и без



вопросов. Но этого сделано не было, даже мишень появилась после обсуждения результатов синтеза. По началу механизм действия рассмотрен не был, это вызвало все вопросы. Насчет ничтожной предсказательной силы. По разному можно предсказывать. Есть разные алгоритмы, разные модели, разные обучающие выборки... Андрей Альфредович, наверно, об этом хорошо знает. Действительно можно действовать методом перебора, таких вариантов может быть очень много, но всегда интересно понять, мне по крайней мере, какая рациональная основа в синтезе и дизайне новых биологически активных соединений. Потому что варианты комбинаторные – это не путь к решению проблемы, надо все-таки решать какие-то предсказательные модели, как бы это для кого-то не звучало резко или неубедительно. На мой взгляд вопрос с механизмом и отправными моментами дизайна остался нераскрытым, я на это и хотел обратить внимание. Благодарю.

**Олейников Владимир Александрович**

А про диссертацию?

**Ефремов Романом Гербертович**

Я высказал свои замечания... Я буду голосовать за, человек заслуживает присвоения искомой ученой степени. У меня есть вопросы, но они не относятся к данной защите и голосованию. Спасибо.

**Бовин Николай Владимирович**

Уважаемые коллеги попробую объяснить мое мнение, почему у нас такая мощная дискуссия, почему так много вопросов. Маленький исторический экскурс: когда я пришел в ИБХ, я работал в одной лаборатории, когда ее руководитель приглашал нового аспиранта, он объяснял ему тему, и сажал его на месяц в библиотеку. После месяца аспирант возвращался и сообщал Анатолию Яковлевичу вердикт: согласен он делать эту тему или нет. И на моей памяти были случаи, когда аспирант не соглашался и убеждал руководителя, что не надо этим заниматься. Тогда он получал новую тему или предлагал сам альтернативную. Я подозреваю, что в те времена, это не было системой, а было исключением. Я подозреваю, что это не характерно и для наших дней. К чему я все это. Диссертант работал в тех рамках, которые ему были обозначены научным руководством, и, когда мы говорим о диссертации, как о квалификационной работе, имеем в виду, что человек выполнил его и выполнил хорошо или не хорошо. В данном случае я убежден, что задание было выполнено замечательно, здесь и ферментативный синтез в широком масштабе, и химический. Диссертант продемонстрировал свои возможности в идентификации соединений, в разделение соединений, в определение структуры. Он участвовал в изучение биологической активности, в интерпретации результатов, в написании самой диссертации. Здесь не может быть сколько-нибудь серьезных претензий ни у меня, ни у остальных. То, что диссертант достоин искомой степени, по-моему ни у кого не вызывает сомнения. Вопросы возникли потому, что это тематика технически не достаточно хорошо упакована. По поводу технической части, не совсем правильно была выбрана тема диссертации, это не биотехнология, а скорее биоорганическая химия. И химический синтез, и ферментативный синтез, и исследование самого фермента... Ошибка в том, что неправильно была определена эта часть. И если так, может быть немножко по-другому были расставлены акценты в самом исследовании, больше бы внимания было уделено механизмам реакции, не было бы такого количества настороженности... Еще раз повторяю, я призываю всех голосовать за.

**Иванов Вадим Тихонович**

Спасибо. Я бы не хотел, чтобы предложение Николая Владимировича звучало, как сменить специальность. Я считаю, что нужно оставить специальность биотехнология,



поскольку работа имеет прямое отношение к промышленности лекарственных препаратов. Поэтому не надо предлагать смену специальности.

**Бовин Николай Владимирович**

А я и не предлагаю.

**Олейников Владимир Александрович**

Можно я слово скажу. На самом деле, конечно, когда принимались документы к защите и просматривалась тема, мы сверяли с паспортом специальности, нашли соответствующие пункты, по которым тематика этой работы соответствует паспорту специальности биотехнология (в том числе бионанотехнология). Так что не может быть никакой речи о том, чтобы выходить из одной специальности и входить в другую.

**Иванов Вадим Тихонович**

У меня такое чувство, что все, кто хотел поучаствовать в общей дискуссии, выступили. Правильно? И я должен предоставить слово диссертанту для заключительного слова.

**Харитонов Мария Игоревна**

Хочу, во-первых, поблагодарить всех за большое количество вопросов и замечаний, надеюсь, что это связано все-таки с интересом к моей работе. Поэтому спасибо всем большое.

Хочу поблагодарить своего научного руководителя Мирошникова Анатолия Ивановича и Константинову Ирину Дмитриевну за огромную поддержку и помощь в подготовке диссертационной работы. Также хочу поблагодарить всех сотрудников нашей лаборатории, в особенности Антонова Константина Владимировича, Каюшина Алексея Львовича, Фатеева Илью Владимировича и группу Есипова Романа Станиславовича за предоставление ферментов. Также хочу поблагодарить оппонентов за отзывы и за замечания, хочу поблагодарить наших коллег из Института органического синтеза и Института вирусологии им. Гамалеи. Также хочу отдельно поблагодарить свою семью за поддержку и понимание. Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович**

Мы можем переходить к заключительному этапу. Нам нужно выбрать счетную комиссию. У меня есть подготовленный вариант: Румш, Ефремов, Олейников. Вопрос: есть ли отводы, самоотводы? Нет. Есть ли возражения против данного состава счетной комиссии? Нет возражений. Комиссию выбрали. Давайте сейчас обсудим проект данного заключения. Проведем обзор замечаний сейчас, прежде чем ознакомимся с результатами счетной комиссии. Николай Владимирович, вы обещали пару слов... Традиционно.

**Бовин Николай Владимирович**

*(Вносит предложения по исправлению и дополнению некоторых формулировок в заключении).*

**Иванов Вадим Тихонович**

Предлагаю с учетом будущей редакции диссертантом и его руководителем, а также при непосредственном участии Бовина Николая Владимировича, принять проект заключения... Давайте вернемся к процессу защиты... Объявляю перерыв. Вернемся после процедуры голосования. Предлагаю никому надолго не расходиться.

*(Проводится голосование).*

**Олейников Владимир Александрович**



*(Докладывает результаты работы счетной комиссии).*

Коллеги, счетная комиссия отработала. Готова представить результаты. По результатам голосования о присуждении Харитоновой Марии Игоревне степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии): присутствовало на заседании 21 член дис. совета, роздано бюллетеней - 21, в урне оказалась – 21, «за» - 21, «против» и «не действительных» бюллетеней - нет. Решение совета положительное.

**Иванов Вадим Тихонович**

Прошу утвердить итоги голосования. Кто за? Единогласно.

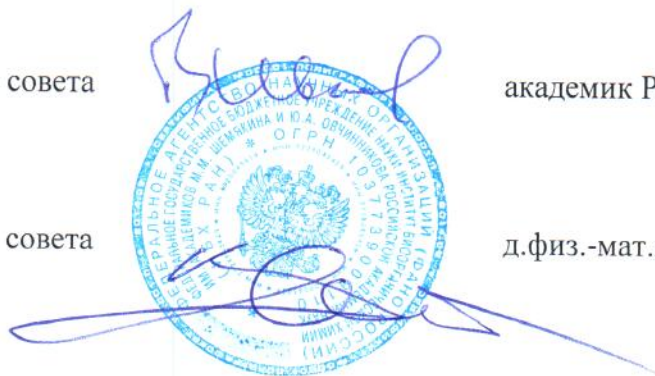
*(Далее проходит голосование по проекту заключения. Заключение принято единогласно).*

**Иванов Вадим Тихонович**

Все за, спасибо. Вот теперь можно поздравить диссертанта с успешной защитой.

Председатель  
диссертационного совета

Ученый секретарь  
диссертационного совета



академик РАН, д.х.н. Иванов В.Т.

д.физ.-мат.н. Олейников В.А.