

УТВЕРЖДАЮ

И.о. ректора



Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования
«Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»

A.G. Mazhuga
А.Г. Мажуга

« 05 » 10 2017 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Российский химико-
технологический университет имени Д.И. Менделеева»**

**на диссертацию Харитоновой Марии Игоревны на тему:
«Нуклеозиды бензимидазола: синтез и изучение свойств»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических
наук по специальности 03.01.06 «Биотехнология (в том числе
бионанотехнологии)»**

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. Благодаря уникальному механизму действия на мишени, присутствующие только в вирусной клетке, нуклеозиды бензимидазола характеризуются не только избирательной активностью, но и невысокой системной токсичностью.

Получение нуклеозидов на основе как природных пуринов и пиримидинов, так и бензимидазолов, осуществляется чаще всего с помощью многостадийного химического синтеза и требует введения защит в основание и в углеводную часть молекулы, последующего выделения промежуточных продуктов и многоступенчатой очистки целевых соединений. Актуальным является поиск более простого и менее затратного способа получения нуклеозидов бензимидазола. К современным подходам создания гликозидной связи относятся реакции трансгликозилирования, осуществляемая ферментами, полученными методами генной инженерии – нуклеозидфосфорилазами. Данные реакции характеризуются регио- и стереоселективностью, позволяют получать целевые нуклеозиды с хорошим выходом, без использования органических растворителей. Применение такого подхода к синтезу нуклеозидов бензимидазола позволит получить серию новых лекарственных веществ, обладающих противовирусной активностью.

Поэтому целью диссертационной работы Харитоновой М.И. 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:

- синтез серии 4,6-дифтор-5-замещенных-нуклеозидов бензимидазола рибо- и 2'-дезоксирибо рядов;
- синтез серии 2'-дезоксид-2'-фторарабинозидов 5,6-, 4,6- и 4,5,6-замещенных бензимидазолов;
- синтез нуклеозидов бензимидазола, модифицированных по С2 положению имидазольного кольца;

- исследование субстратной специфичности PNP *E. coli* по отношению к гомологам бензимидазола, у которых один атом азота заменен на гетероатом кислорода или серы;
- определение *in vitro* антивирусной активности модифицированных нуклеозидов бензимидазола и исследование их цитотоксичности на опухолевых клетках человека.

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, определении способов их дальнейшей модификации для усиления антивирусного эффекта.

Теоретическая значимость работы состоит в определении критериев субстратной специфичности пуриннуклеозиддифосфорилазы по отношению к модифицированным бензимидазолам, обнаружении среди вновь полученных нуклеозидов бензимидазола соединений, обладающих достоверной противовирусной активностью в отношении вируса простого герпеса.

Практическая ценность работы заключается в разработке и оптимизации универсального метода биосинтеза нуклеозидов бензимидазола, отличающего высокой воспроизводимостью, возможностью масштабирования в условиях промышленного производства, получении образцов нуклеозидов бензимидазола с различными заместителями в бензимидазольном кольце и углеводными остатками трех типов (рибоза, 2-дезоксирибоза, 2-дезоксидезокси-2-фторарабиноза).

Практические результаты работы подтверждены подачей заявки на патент РФ.

Результаты диссертационной работы целесообразно использовать на предприятиях фармацевтической промышленности, специализирующихся на

выпуске противовирусных препаратов.

Исследования по теме диссертации выполнены на современном научном уровне с использованием современных физико-химических (колоночная хроматография, ВЭЖХ, ЯМР-спектроскопия, УФ-спектрометрия) и биологических методов (ингибирование развития вирусиндуцированного цитопатического эффекта, определение цитотоксичности) исследования, цель работы достигнута, поставленные задачи решены.

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, теоретически обоснованы и подтверждены экспериментально. Все теоретические и экспериментальные результаты получены Харитоновой М.И. самостоятельно.

Диссертация написана научным языком с использованием современной научной терминологии, результаты представлены достаточным количеством схем и рисунков, что облегчает их наглядное восприятие.

По результатам диссертационной работы опубликовано четыре статьи в научных журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных Минобрнауки РФ для опубликования результатов диссертаций, кроме того результаты работы доложены на восьми научных конференциях, подана одна заявка на патент РФ. Содержание публикаций достаточно полно отражает содержание диссертации.

Автореферат по структуре и содержанию соответствует содержанию диссертации.

К недостаткам работы следует отнести следующие.

- 1) Актуальность и цель работы, приведенные во введении к диссертации и в автореферате различаются по содержанию.
- 2) Размещение раздела «Материалы и методы» в конце работы затрудняет ее восприятие. Целесообразнее было бы поместить его после раздела «Литературный обзор».
- 3) 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.

- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.

Таким образом, диссертация Харитоновой Марии Игоревны на тему:

«Нуклеозиды бензимидазола: синтез и изучение свойств», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), является научно-квалификационной работой, в которой изложены новые научно обоснованные технические и технологические разработки, имеющие существенное значение для развития медицинской промышленности России.

Диссертационная работа Харитоновой Марии Игоревны соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том, числе бионанотехнологии).

—Отзыв на диссертацию Харитоновой М.И. рассмотрен и утвержден на заседании кафедры биотехнологии (протокол № 4 (787) от «04» октября 2017 г.)

Заведующий кафедрой биотехнологии

РХТУ имени Д.И. Менделеева, д.т.н.,

профессор


Подпись В.И. Панфилов
УДОСТОВЕРЯЮ

Профессор кафедры биотехнологии,

РХТУ имени Д.И. Менделеева,

д.х.н., доцент


УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
РХТУ ИМ. Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА

 А.А. Красноштанова

125047, г. Москва, Миусская пл., д.9, РХТУ имени Д.И. Менделеева

e-mail: vip@muctr.ru, ae-kuz@yandex.ru, aak28@yandex.ru

Подпись А.А. Красноштанова
УДОСТОВЕРЯЮ
УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
РХТУ ИМ. Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА
