

В диссертационный совет
Д 002.019.01 на базе ИБХ РАН
117997, Москва,
ул Миклухо-Маклая, 16/10

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Харитоновой Марии Игоревны**

«Нуклеозиды бензимидазола: синтез и изучение свойств», представленной на соискание
ученой степени кандидата химических наук по специальности
03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Поиск новых противовирусных препаратов является очень актуальной задачей, поскольку ко многим препаратам, используемым в лечебной практике, со временем развивается резистентность и терапия становится менее эффективной. Поскольку большая часть противовирусных препаратов по структуре относится к нуклеозидам, логичным является поиск новых соединений в этой группе, особенно если предполагаемый механизм действия синтезируемых соединений является уникальным.

Нуклеозиды бензимидазола, описанные в работе Харитоновой М.И., относятся к неприродным нуклеозидам, механизм действия которых значительно отличается от механизма действия препаратов пуринового и пиримидинового рядов. Благодаря воздействию исключительно на вирусные мишени, нуклеозиды бензимидазола характеризуются не только избирательной активностью в отношении цитомегаловируса и вируса простого герпеса, но и невысокой системной токсичностью.

Обычно получение нуклеозидов осуществляется с помощью многостадийных химических синтезов, требует введения защит в молекулу, выделения промежуточных продуктов и многоступенчатой очистки целевых соединений. Актуальным является использование более простого способа получения нуклеозидов, к которому можно отнести создание гликозидной связи с помощью реакции ферментативного трансгликозилирования. Реакции ферментативного трансгликозилирования осуществляются ферментами - нуклеозидфосфорилазами, характеризуются регио- и стереоселективностью, позволяют получать целевые нуклеозиды с хорошим выходом, без использования органических растворителей.

Автор успешно использовал данный подход к синтезу серии нуклеозидов бензимидазола с различными модификациями в гетероциклическом основании и углеводном остатке. Проведено первичное изучение антигерпетической активности и цитотоксичности синтезированных соединений, сделаны предварительные заключения о зависимости "структура - активность" полученных соединений, что позволяет скорректировать дальнейшее направление исследований.

Стоит отметить объем проделанной автором работы. Синтез целевых соединений

включал несколько этапов: определение субстратной специфичности пуриннуклеозидфосфорилазы *E. coli* по отношению к 4,5,6- и 2,5,6-замещенным бензимидазолам; оптимизация параметров синтеза нуклеозидов (тип донора углеводной части молекулы, соотношение субстратов, количество ферментов, pH) и непосредственно сам синтез новых соединений - модифицированных нуклеозидов бензимидазола - с природными остатками углеводов в молекуле (рибоза и 2-дезоксирибоза), а также нуклеозидов бензимидазола с неприродными углеводными остатками (арабиноза, 2-дезоксид-2-фторарабиноза).

Кроме того, автором были определены критерии субстратной специфичности пуриннуклеозидфосфорилазы *E. coli* по отношению не только к модифицированным бензимидазолам, но и к нетипичным для данного фермента субстратам (бензоксазолам и бензотиазолам), получена новая информация о субстратной специфичности пуриннуклеозидфосфорилазы, функционировании ее активного центра.

В результате проведенных исследований впервые были синтезированы двадцать нуклеозидов бензимидазола с различными заместителями в бензимидазольном кольце и углеводными остатками трех типов (рибоза, 2-дезоксирибоза и 2-дезоксид-2-фторарабиноза) для структурно-функциональных исследований и тестирования биологической активности и два нуклеозида (рибозид и 2'-дезоксирибозид) нетипичного для пуриннуклеозидфосфорилазы субстрата - 2-амино-1,3-бензоксазола. Структура всех синтезированных соединений убедительно доказана с помощью LC-MS и гомо- и гетероядерной двумерной ЯМР-спектроскопии.

Получены первичные данные *in vitro* о противовирусной и противоопухолевой активности синтезированных нуклеозидов бензимидазола.

Среди синтезированных соединений обнаружены несколько активных соединений с достоверной антивирусной активностью в отношении вируса простого герпеса человека первого типа, одно из которых - 2-амино-5,6-дифтор-1-(β-D-рибофуранозил)бензимидазол оказался высокоактивным в отношении указанного типа вируса, причем не только на эталонном штамме, но и на штаммах вируса простого герпеса, устойчивых к действию ацикловира, цидофовира и фоскарнета.

По результатам работы опубликовано 4 статьи в журналах с высоким импакт-фактором, работа докладывалась на восьми российских и международных конференциях, подана заявка на патент РФ.

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 общего высокого уровня работы. 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).

Доцент кафедры биоорганической химии
биологического факультета ФГОУ ВО
«Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова», к.х.н.
119234, г. Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12
Тел. 8(495)939-35-28
e-mail: esipov@mail.bio.msu.ru

Есипов
Дмитрий
Станиславович

