

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук**

СТЕНОГРАММА
Заседания диссертационного совета 24.1.037.01 при ИБХ РАН
20 декабря 2023 года

Защита диссертации
на соискание учёной степени кандидата химических наук

Елецкой Барбары Златковны

«Биосинтез нуклеозидов с нетипичными гетероциклическими основаниями»

по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия

Москва 2023 г.

СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета 24.1.037.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 20 декабря 2023 года.

Председатель диссертационного совета
доктор химических наук, академик РАН

Анатолий Иванович Мирошников

Учёный секретарь диссертационного совета
доктор физико-математических наук

Владимир Александрович Олейников

Из 30 членов совета присутствует 22 человека, из них докторов по профилю диссертации – 5.

1.	Академик РАН, д.х.н.	Мирошников Анатолий Иванович	(1.5.6)
2.	Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(1.5.6)
3.	Д.б.н.	Ажикина Татьяна Леодоровна	(1.5.3)
4.	Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(1.4.9)
5.	Д.х.н.	Белогуров Алексей Анатольевич	(1.5.3)
6.	Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(1.5.6)
7.	Академик РАН, д.х.н.	Габибов Александр Габибович	(1.5.6)
8.	Д.х.н.	Генералова Алла Николаевна	(1.5.6)
9.	Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(1.5.3)
10.	Академик РАН, д.х.н.	Донцова Ольга Анатольевна	(1.5.3)
11.	Член-корр. РАН, д.б.н.	Завриев Сергей Кириакович	(1.5.6)
12.	Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(1.5.3)
13.	Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(1.5.6)
14.	Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(1.5.3)
15.	Академик РАН, д.б.н.	Лукьянов Сергей Анатольевич	(1.5.3)
16.	Член-корр. РАН, д.х.н.	Мирошников Константин Анатольевич	(1.5.6)
17.	Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(1.4.9)
18.	Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(1.5.3)
19.	Д.х.н.	Смирнов Иван Витальевич	(1.4.9)
20.	Член-корр. РАН, д.б.н.	Тоневицкий Александр Григорьевич	(1.5.6)
21.	Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(1.4.9)
22.	Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(1.4.9)

Мирошников А.И., председатель: Защита - Елецкая Барбара Златковна "Биосинтез нуклеозидов с нетипичными гетероциклическими основаниями" на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности "Биоорганическая химия", научный руководитель - Константинова Ирина Дмитриевна.

Олейников В.А., учёный секретарь: *(зачитывает материалы личного дела)*. Так, из личного дела: Елецкая Барбара Златковна, Российская Федерация, окончила в 2014 году Московский государственный университет тонких химических технологий по направлению "Химическая технология и биотехнология". В 2018 году успешно завершила обучение в Российском технологическом университете МИРЭА по программе аспирантуры по направлению 04.06.01 "Химические науки" с профилем "Биоорганическая химия". С 2012 по 2014 годы работала лаборантом-исследователем, с 2014 по 2020 – инженером, а с 2020 года по настоящее время является младшим научным сотрудником Лаборатории биосинтеза низкомолекулярных физиологически активных соединений в Институте имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (нашем институте). Экзамен по специальности биологической химии сдан с оценкой "отлично". Работа выполнена в нашем институте, в лаборатории биосинтеза низкомолекулярных физиологически активных соединений, научным руководителем которой, вновь, является Ирина Дмитриевна Константинова, руководитель этого подразделения (лаборатории). По теме диссертации опубликовано 17 печатных работ, включая 4 статьи, 1 патент и 12 тезисов докладов на конференциях. Объявления о защите, автореферат и диссертация были размещены на сайте ВАК 17 октября 2023 года, то есть вовремя, и все необходимые документы в деле имеются. Просим.

Елецкая Б.З., соискатель: Глубокоуважаемый председатель и члены диссертационного совета, Вашему вниманию представляется моя работа ... *(излагает основные положения диссертационной работы)*.

Мирошников А.И., председатель: Спасибо. Вопросы?

Бовин Н.В.: Не могли бы вы пояснить выбор оснований для проведения реакции рибозилирования? Дело в том, что их синтезировано за последние 40 лет. Если миллион, то сто тысяч точно есть во всём мире. Вы не дали обоснования. Почему вы выбрали эти три группы оснований? То есть, что вас привело именно к этим структурам, а не к десяткам тысяч возможных других вариантов.

Елецкая Б.З., соискатель: Спасибо за вопрос. На самом деле, все зависело от коллаборации с лабораториями, которые поставляли нам гетероциклические основания. Эти гетероциклические основания проявляли либо слабую активность, либо противовирусное действие в случае бензоксазиновых заместителей, но имели плохую растворимость - флексимерные гетероциклические основания. Так как они являются аналогами 8-аза-7дезаза аденозина, который обладает широким спектром антибактериальной активности, было интересно получить

их нуклеозиды. Химический синтез несложен, но представляет собой многоступенчатый процесс. В нашем случае особый интерес заключался в изучении возможностей каталитического центра пурин-нуклеозидфосфорилазы. Также мы сотрудничали с нашими коллегами. Таким образом, выбор этих гетероциклов был обусловлен исторически сложившейся ситуацией и доступностью материалов в наших лабораториях.

Мирошников А.И., председатель: Спасибо. Пожалуйста, руководитель.

Константинова И.Д., научный руководитель: Я долго не буду отвлекать ваше внимание. Могу сказать, что у нас есть уникальный сотрудник, Барбара, который так переживает за каждую поставленную ей реакцию. Она её изучает досконально, многосторонне, всеобъемлюще. Если есть проблемы, то она их решает. Барбара, как смелый разведчик, бросается в изучение любых новых приборов и методов анализа. Докинг, который она сделала, это делала не соседняя лаборатория, как обычно принято, а делала сама. Она установила программу, зарегистрировалась на форуме, узнала специфику работы с этой программой, пообщалась со многими исследователями, которые ей активно пользуются этой программой. Тем не менее, получила замечательные результаты докинга, что позволило эту часть работы опубликовать в хорошем журнале с высоким импактом. Она у нас умница, она человек принципиальный, то есть все при доскональном исследовании отражается потом объективно в результатах её труда. Я очень довольна, что она работает в нашей лаборатории. У нас на Барбару большие планы и много сложных задач, и я надеюсь, что сегодня все проголосуют за присуждение ей искомой степени кандидата химических наук. Спасибо.

Мирошников А.И., председатель: Спасибо. Да, у Барбары сумасшедшая энергия, это точно. Пожалуйста, Владимир Александрович.

Олейников В.А., учёный секретарь: Значит, во-первых, *заклучение организации, где выполнена работа* (выполнена в нашем институте). Соответственно, здесь биографические данные. Научный руководитель, который только что выступал - Ирина Дмитриевна Константинова. Тема утверждена на заседании учёного совета 6 октября 2021 года. Актуальность темы исследования подчёркивается, исследование позволило создать библиотеку новых модифицированных нуклеозидов для изучения биологической активности. Это позволило выявить зависимость структуры-активность в ряду синтезированных соединений, что необходимо при разработке лекарственных препаратов на основе модифицированных нуклеозидов. Ну, это, как бы так сказать, актуальность его подтверждается. Научная новизна, ну, здесь же, опять же несколько: впервые показано, впервые обнаружены региоизомерные продукты в процессе реакции. То есть, вот таким образом научная новизна тоже подчёркивается. Теоретическая практическая значимость, 4 работы опубликованы в хороших журналах. Далее, достоверность результатов исследования подтверждается выполнением работы в соответствии с установившейся в области научной практикой, опять же здесь очень интересно, что и ЯМР-спектроскопия, и масс-спектрометрия использованы для подтверждения структуры и свойств тех объектов, которые получены. Соответственно, подчёркивается, что таким образом диссертационная работа Елецкой Б.З. соответствует заявленной научной

специальности. В диссертации соблюдены все требования, установленные положением. И, соответственно, диссертация Елецкой Барбары Златковны рекомендуется к защите. Присутствовало на семинаре 15 человек, единогласное голосование, секретарь Каюшин и заключение утверждено директором нашего института академиком Александром Габировичем Габировым.

Это что касается заключения организации, где выполнялась работа, теперь *отзыв ведущей организации*, в качестве которой выступает Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук. Актуальность работы, опять же уже было сказано, фактически тоже самое. Цель исследования здесь отражается, научная новизна заключается в синтезе 3 новых серий модифицированных нуклеозидов с нетипическими гетероциклическими основаниями и выявление закономерности структура-активность, опять же упоминается, что впервые продемонстрирована способность пурииннуклеозидфосфорилазы *E.coli* гликозилировать основания с объёмными бензоксазиновыми заместителями. Достоверность, подчёркивается, диссертация изложена логично и последовательно. Теоретическая значимость данной работы заключается в расширении наших знаний о возможностях ферментативного синтеза модифицированных нуклеозидов с нетипичными гетероциклическими основаниями. Практическая значимость - в создании 3 новых серий модифицированных соединений. И таким образом, данная работа не только вносит вклад в фундаментальные научные знания, но и открывает новые перспективы для применения модифицированных нуклеозидов в медицине, что может иметь практическое значение для разработки инновационных лекарственных препаратов.

Общая характеристика работы 119 страниц, 131 источник. Далее довольно подробно анализируется обсуждение результатов (раздел). И фактически, вот здесь вот подчёркивается, особенно хочется отметить впечатляющую работу Барбары Златковны, в контексте досконального изучения проводимых реакций, обнаружения неспецифических реакций.

Теперь важные вопросы и замечания, здесь я зачитаю полностью. Значит в работе, к сожалению, есть технические погрешности, затрудняющие восприятие текста: первое - со страницы 54 и далее обнаружено задвоение нумерации в верхнем и нижнем колонтитулах. Второе - на странице 15 структурная формула Марибавира неправильно представлена как D-нуклеозид, вместо корректного L-нуклеозид. Третье, текст диссертации содержит некоторые стилистические ошибки, повторы, выражения внутри одного предложения, избыточное использование сложных фразеологических конструкций. Четвёртое, в экспериментальной части страница 88-89 указаны, что выходы для соединения серии 1, 2 и 3 приведены в таблицах 8, 10 и 12 соответственно, однако в этих таблицах проведены данные о конверсии соединений по данным ВЭЖХ. Выходы в процентах и миллиграммах приведены в таблицах 9, 11 и 13. Таблица 12, первый столбец, название столбца не соответствует содержанию. Шестое - встречается некорректное выражение так, например, на странице 50 «неприродный углеводный остаток арабинозу». Арабиноза широко распространённый природный углевод. Опять же эти и ряд других неотмеченных замечаний носят технический характер и не умаляют общей ценности, высокой ценности исследования. Апробация работы - материалы представлены на 12 международных российских конференциях, по материалам диссертации опубликованы 4 статьи в рецензируемых журналах, получен патент Российской Федерации. Рекомендации - здесь указана целая серия организаций, где могут быть использованы результаты данной работы. И

таким образом, диссертация Барбары Златковны является законченным научным трудом, в котором содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития биотехнологий модифицированных нуклеозидов. Диссертация соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней. Её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидат химических наук по специальности 1.4.9 «Биоорганическая химия». Председатель семинара - это главный научный сотрудник, доктор химических наук Сильников Владимир Николаевич. Соответственно, этот отзыв ведущей организации утверждён исполняющим обязанности директора Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук Коваль В.В.

Мирошников А.И., председатель: Пожалуйста. Барбара.

Елецкая Б.З., соискатель: Да, я хотела бы согласиться, что были допущены технические ошибки. И одно из замечаний по моей работе, которое пришло и в отзывах на автореферат, и в отзыве ведущей организации: мы некорректно использовали словосочетание «неприродный углевод арабиноза», да, арабиноза является природным углеводом, но, к сожалению, мы имели ввиду, что в нашем контексте нуклеозидной химии, арабиноза является неприродным углеводным остатком в составе нуклеозида и получается он достаточно сложными, трудоёмкими химическими синтезами, но впредь мы не будем использовать такую формулировку, будем более корректно выражаться.

Мирошников А.И., председатель: Спасибо.

Олейников В.А., учёный секретарь: Так, в продолжение, значит, здесь в совет поступили ещё *два отзыва на автореферат*. Оба отзыва полностью положительные. Первый отзыв подписан доцентом Кафедры биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова, Матвеев А.В. И второй отзыв, соответственно, тоже здесь положительный, но здесь есть тоже указаны некоторые вопросы и замечания. Первое, почему для получения флексимерных нуклеозидов были выбраны производные на основе пиразола, а не имидазола, который обычно входит в состав аналогов нуклеозидов пуринового ряда? Второе, автореферат содержит ряд опечаток и ошибок в нумерации соединений, но остальное все положительно, соответственно соответствует, заслуживает и подпись доктор химических наук по специальности органическая химия, замдиректора по научной работе Института органического синтеза имени И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук, город Екатеринбург, Бургарт Янина Валерьевна.

Мирошников А.И., председатель: Спасибо.

Елецкая Б.З., соискатель: Для вопроса, почему же были у нас использованы пиразольные гетероциклические основания, мной подготовлен слайд, потому что, на самом деле, нашей целью были даже не аналоги пуриновых гетероциклических оснований, а уже аналоги модифицированных пуриновых оснований как 8-аза-7дезаза пурины, такие вот, например, как аллопуринол, который используется для лечения подагры. А также такое замещение в

пуриновых основаниях делает эти соединения активными против некоторых видов *Leishmania*, *Trypanosoma* и *Mycobacterium*, у них находят противоопухолевую активность, провирусную активность. А в нашем случае флексимерные основания были с пиразолом, вот от этого азота нам никак не избавиться, потому что, так как наша лаборатория уже давно работает, а мы знаем, что серин 90 в активном центре фермента, ему нужно в этом положении иметь 2 азота для того, чтобы с ними связаться, с первым связаться, а по второму провести гликозирование. Вот, наверное, это исчерпывающий ответ.

Мирошников А.И., председатель: Марина Борисовна, мы рады Вас приветствовать в нашем институте в качестве оппонента, все-таки МГУ основоположник работ в Советском союзе по нуклеотидам и нуклеозидам.

Готтих М.Б., оппонент: Дорогие коллеги, я очень рада Вас тоже всех здесь видеть. Очень рада присутствовать здесь и быть оппонентом такой замечательной диссертации. Но я хочу начать с того, что я искренне завидую вам, Анатолий Иванович, и искренне завидую Ирине Дмитриевне, что у вас у вас в институте, у вас в лаборатории делаются такие замечательные работы. Вот, к сожалению, химфак был родоначальником, но на химфаке такого уже не делают.

Мирошников А.И., председатель: Но начало от вас пошло.

Готтих М.Б., оппонент: Начало от нас, да. А теперь давайте дружить. Может быть, мы вместе сделаем что-нибудь.

Теперь я хочу перейти к тому, ради чего я здесь нахожусь, значит, рассказать своё впечатление о работе Барбары Златковны. Рассказать, как я её увидела, какие я нашла в ней достоинства и какие недостатки. Рассказывать о достоинствах мне достаточно просто потому, что вы все слышали. Очень хороший доклад. Значит, если формально надо чуть-чуть сказать об актуальности, новизне: синтезированы новые соединения, которых никто раньше вообще в глаза не видел. С точки зрения актуальности. Вот, Алексей Радиевич, я выяснила, что сейчас, на данный момент, в терапии различных заболеваний используется чуть больше 100 модифицированных нуклеозидов или производных модифицированных нуклеозидов. Из них приблизительно половина - это противовирусные препараты, четверть - противораковые. Долгое время никак не могли бороться с бактериями с помощью модифицированных нуклеозидов, сейчас появляются уже и противобактериальные, противогрибковые и так далее. Спрашивается, вроде бы, уже 100 штук есть зачем ещё синтезировать? На самом деле приходится синтезировать, ну, во-первых, потому что полно патогенов с которыми мы ещё не научились бороться, во-вторых, потому что те патогены, с которыми вроде бы могли бороться, вырабатывают устойчивость и, значит надо что-то менять в структуре лекарства для того, чтобы эту устойчивость перебарывать. Ну, то, что относится к патогенам, в общем, тоже относится и к области онкологии, потому что раковые клетки тоже могут вырабатывать устойчивость, и тоже надо что-то менять в структуре лекарства для того, чтобы победить заболевание. Поэтому, в общем, понятно, что работы по синтезу новых модифицированных нуклеозидов - это абсолютно актуальная вещь. И очень хорошо, что в этом замечательном институте и в нашей замечательной стране такие работы ведутся.

Теперь непосредственно по работе Барбары. Значит, вы все поняли, что было синтезировано внутри новые серии соединения, в которых модифицированы как гетероциклические основания, так и ещё с некими манипуляциями с остатками сахара (и рибоза, и где-то получилось сделать арабинозиды и 2'-дезоксирибозы где-то получается, где-то нет). Хорошо, что было приятно, что во всех случаях Барбара пыталась все это сделать ферментативным способом с помощью пуридинуклеозидфосфорилазы, но где-то сказала, что лучше использовать химию. Вот иногда бывает все-таки лучше и химия.

Все соединения синтезированные, хорошо охарактеризованы, все очень чётко, доказанная структура. Тут никаких, в общем, у меня серьёзных возражений по, так сказать, химико-ферментативной части работы у меня никаких серьёзных возражений и замечаний нет. Для ряда соединений была исследована их возможность их дезаминирования аденозиндезаминазой. Понятно, что первая серия соединений, когда в 6 положение аденозина, которое, собственно говоря, и должно дезаминироваться, когда в это положение введён колоссальный огромный остаток. Понятно, что такие соединения аденозиндезаминаза никак не узнает, ничего удивительного нет. Во второй серии, модификации опять-таки 6 положения остатками аминокислот при наличии хлора во 2 положении, там вариации были возможны, и я чуть подробнее на этом остановлюсь чуть позже. Наконец, третья серия соединений с флексимерными гетероциклическими, такими аналогами гетероциклических оснований, тоже очень интересно, потому что, в общем, нуклеозидов с такими флексимерными аналогами оснований не так много синтезировано. И понять, как их можно использовать, и что с их помощью, какие инфекции или какие болезни, мы можем с их помощью лечить. Это очень важно. И это здорово. Это вот то, что мне понравилось в этой работе. Большой хороший синтез, ферментативный синтез, тщательное доказательство структуры и исследования соединений - как различна их биологическая активность, взаимодействие с какими-то ферментами длинного обмена. Все очень хорошо, на мой взгляд, было сделано.

Теперь, если говорить о работе, она построена совершенно классически, я не буду подробно рассказывать, как она построена. Я только расскажу по обзор литературы. Значит, обзор литературы на меня произвел странное впечатление. Вот почему. Я бы использовала такое ненаучное слово «впихнуто» очень много. В обзоре литературы рассматривается и структура модифицированных нуклеозидов, которые используются как лекарство и сравнивается, вот на примере того, что Барбара показывала в самом начале, сравниваются достоинства, недостатки химического и ферментативного метода синтезе модифицированных нуклеозидов. И там же ещё какие-то данные по свойствам модифицированных нуклеозидов, и там же большой раздел по свойствам пуридинуклеозидфосфорилазы, по её субстратной специфичности. В результате того, что там так много всего, какие-то разделы ты читаешь именно как обзор литературы с неким обсуждением опубликованных результатов, а какие-то разделы это просто, ну, я бы сказала справочные таблицы. Я бы этот обзор литературы разбила на три, добавила и опубликовала то, что ещё не опубликовано, и это будет здорово.

Поскольку я уже начала критиковать обзор литературы, я теперь продолжу критиковать и результаты обсуждения. Работа замечательная, все хорошо. Идеальная работа? Нет. Идеальных работ вообще не бывает, и к этой работе замечаний может быть достаточно много. Да, конечно, где-то есть лишние запятые, где-то их не хватает. Есть ошибки, опечатки, есть неудачные выражения. Я не буду их цитировать, что-то было в отзыве ведущей организации. Поэтому я все эти неудачные выражения не буду приводить. Что немножко печальнее, есть ошибки в

названии химических соединений. Ну, в одном случае арабиноаденозин по поводу структурной формулы назван «1-β-D», при том, что это арабиноаденозин, он должен быть, конечно же, «9-β-D». В отзыве ведущей организации, они нашли вместо одного L-изомера нуклеозид модифицированного, они нашли неправильно написанные «D-». Я в обзоре литературы вместо двух «D-» нашла два неправильно написанных «L-». Так что, в общем, вот со структурами Барбара Златковна немножко вольно иногда обращается.

Дальше в докладе, когда Барбара рассказывала о первой серии соединения, когда в 6 положение аденозина вводятся объёмные заместители, есть в автореферате и диссертации есть глава, изучения их биологической активности противовирусной, в частности. И в диссертации все хорошо, есть таблица с активностями (LC50, токсичностью и так далее). И обсуждение этой таблицы, в которой никаких уже конкретных цифр нет, а в автореферате таблицы нет, осталось только обсуждение. В результате, когда ты читаешь автореферат, то получается: вот это соединение оказалось более активно, чем вот это, а вот это менее активно, что значит «более», что значит «менее», как-то надо было немножко более аккуратно перейти к переносу данных из диссертаций в автореферат.

В общем то это все не так важно, там в каком-то случае выход то 82%, то 90%. Тоже не очень понятно, какой он. В общем, это все на самом деле такие достаточно формальные вещи, которые на научную значимость работы, вообще никак не влияют. И тут это, в общем, такие замечания достаточно формальные.

Если говорить о замечаниях, точнее, о вопросах научных, то тут вот у меня есть такой вопрос. Вот соединение второй группы (содержащее хлор во 2 положении пурина), сначала в диссертации написано, что атом хлора/фтора в положении 2 пурина предотвращает связывание нуклеотидов с активным центром аденозиндезаминазы. Затем написано, три исследуемых соединения 23, 24 и 12б, все они содержат атом хлора во 2 положении являются конкурентными ингибиторами. У меня вопрос диссертантке: как это так не связываются в активном центре, но являются конкурентными ингибиторами? Я не знаю таких примеров..

И ещё у меня не замечание, а скорее пожелание. Мне было немножко странно с одной стороны, с другой стороны, понравилось. Первый раз вижу в работе, чтобы диссертант уделил такое огромное внимание оптимизации метода синтеза побочного продукта. Представляете, оптимизация метода синтеза побочного продукта и дальше изучение его структуры, исследование механизма его образования с помощью квантовых механических подходов и с помощью моделирования. Вообще первый раз такое вижу, замечательный кусок работы. Красиво, действительно, Барбара показала, почему здесь образуется, в данном случае, в случае с соединением 27 образуется побочный продукт и как он образуется. Но для меня осталось непонятно, у этого соединения 27 есть два очень похожих аналога 28 и 29. У меня вопрос, почему в случае 27 побочная реакция идёт, а в случае 28 и 29 она не идёт? Вот если бы немножко внимание было уделено ещё этому вопросу, вообще было бы замечательно. А так вот я нашла, к чему придраться.

Собственно говоря, больше я придраться ни к чему не буду. Указанные недочёты никоим образом не умаляют значимость диссертационного исследования, не снижают общего высокого уровня работы. Диссертация Елецкой Б.З. является научно-квалификационной работой, по актуальности поставленных задач научной новизне, объёмам выполненных исследований, практической значимости полученных результатов.

Диссертационная работа представлена соискателем Елецкой Б.З. полностью соответствует требованиям пункта 9 Положения о присуждении учёных степеней, утверждённого постановлением правительства Российской Федерации, предъявляемым диссертациям на соискание учёной степени кандидат наук, а её автор Елецкая Барбара Златковна заслуживает, несомненно заслуживает присуждения искомой степени кандидат химических наук по специальности 1.4.9 Биоорганическая химия. Спасибо.

Мирошников А.И., председатель: Спасибо, Марина Борисовна.

Елецкая Б.З., соискатель: Марина Борисовна, спасибо большое за такой разбор моей диссертационной работы. Спасибо, что вы так внимательно отнеслись.

Мирошников А.И., председатель: Барбара, это многое значит.

Елецкая Б.З., соискатель: Да, это очень ценно.

Хочется сказать, что когда работаешь с биокатализом, и когда одна часть работы связана, допустим, с химическим получением нуклеозидных соединений (у нас лаборатория занимается химическими синтезами) и занимаешься биотехнологическим и работаешь с ферментными препаратами, часто получается, что ты работаешь, так сказать, на стыке, и это я пыталась отобразить в своём литературном обзоре. Поэтому он показался таким перенасыщенным разной информацией. Да, мы дополним этот литературный обзор, у нас есть тоже планы опубликовать это в «Успехах химии».

Также я полностью согласна с замечанием по поводу аденозиндезаминазы, уже за десятки лет работы с пуриннуклеозидфосфорилазой, а мы автоматически пишем фосфорилирование, а не дезаминирование. Это да, техническая ошибка. Также я признаю ошибку в том, что было некорректно написано, что они связываются с активным центром. Известно, что хлор-размещённые пурины являются ингибиторами, так как они конкурентные, естественно, связываются с активным центром аденозиндезаминазы. Поэтому, спасибо за отмеченную ошибку в моей работе.

Также мы пытаемся объяснить, почему же происходит гликозилирование в случае 27 соединения, а в случае 29 и 28 - нет. Во-первых, в случае 29 соединения, там есть пиримидиновое основание, которое не является субстратом пуриннуклеозидфосфорилазы, гликозилирование не может по нему проходить. В случае 28 соединения, это немножечко изменённое пиридиновое основание. Мы попробуем сделать молекулярный докинг этого соединения, посмотреть и доказать почему нет продуктов гликозилирования. Так же для 27 соединения, интересно то, что у нас есть такое интересное соединение, как рибозид никотинамид, чья структура очень похожа. Там присутствует такое пиридиновое гетероциклическое основание, которое является субстратом пуриннуклеозидфосфорилазы. Внутри нашего организма оно фосфорилируется до витамина В3, до его активной формы. И, возможно, это наша следующая часть работ. Возможно, кто-нибудь для нас получит такие модифицированные основания с такими гетероциклическими основаниями, и мы увидим, что они тоже являются субстратами. На самом деле будем дальше работать. У нас эти данные готовятся к публикации, мы оформляем сейчас. Институт молекулярной биологии ждёт от нас

готовой работы, потому что работа действительно получилась интересная. А также наш интерес к побочным продуктам обусловлен тем, что чем дальше мы уходим от структуры пуринового гетероциклического основания, мы часто в своей лаборатории сталкиваемся с накоплением таких побочных продуктов. Нам, естественно, интересно, что же это такое, как это работает. Мы везде пишем и утверждаем, что регио- и стереоселективность, а здесь вот в чем дело. Поэтому в рамках моей работы я постаралась уделить этому внимание и исследовать, почему так происходит.

Готтих М.Б., оппонент: Замечательно.

Мирошников А.И., председатель: Максим Алексеевич, пожалуйста на трибуну.

Хомутов М.А., оппонент: Спасибо большое. Уважаемые коллеги, очень приятно оказаться здесь в первый раз и рецензировать работу Барбары. Сегодня уже было неоднократно подчеркнута необходимость проведения подобных исследований, как первой диссертации вашей коллеги, так и в вашей работе. Марина Борисовна сказала, что уже более 100 всевозможных аналогов нуклеозидов находится в практике, ещё столько же находится на различных стадиях клинических испытаний. Безусловно, разработка как химических, так и биохимических подходов по созданию подобных аналогов не теряет своей актуальности. И, соответственно, Барбара посвятила свою работу этому. Не буду, соответственно, повторять уже все то, что было сказано по актуальности и значимости. Диссертационная работа изложена, как уже было сказано, сегодня на 119 страниц, такой стандарт немного и немало. Принципиальных замечаний по работе нет. Но, естественно, есть некие вопросы, пожелания и коррекционные моменты. Первое с чего начинается диссертация, это оглавление, хотелось бы чуть-чуть сделать простым, очень Барбара подробно там была даже подпункты каждого выводов, в каждой части работы выносятся оглавление, так очень подробно. Можно было это сделать чуть более просто. Литературный обзор, безусловно, произвёл тоже такое двойное впечатление, как сказала Мария Борисовна сегодня. Абсолютно те же самые были ощущения, что очень много информации. Я бы разбил на 2 части. В первой Барбара выделяет 4 класса соединений и приводит очень большое количество формул, но практически не уделяет внимания и не проводит анализ этих соединений между собой. А вот во второй части литературного обзора, который, собственно говоря, и связан с химическим и ферментативным способами синтеза, сравнения этих подходов между собой, и уже здесь Барбара максимально подробно все это описывает. Но это и понятно, потому что это непосредственно уже есть её работа, и здесь она с огромным интересом все это нам рассказала в своей замечательной диссертации. Вот если бы первая часть литературного обзора была бы столь же подробно изложена или же, возможно, наоборот, там было бы меньше структур, и то оставшееся, что она бы посчитала необходимым оставить, было бы проанализировано, тогда бы литературный обзор был бы полным.

Переходя к каким-то замечаниям по литературному обзору, единственное на что обратил внимание, это то, что на странице 30 Барбара проводит сравнение ретро-синтеза с комбинированным химико-ферментативным подходом. Это не совсем верно, поскольку ретро-синтезом называется обратный процесс. Понятно, что она хотела здесь сказать химический способ синтеза.

Переходя к экспериментальной части исследования, безусловно, все исследования отличаются объемом и достаточно оригинальные, все вещества охарактеризованы. Как мы уже слышали из доклада, значительную часть работы Барбара посвятила характеристикам побочных продуктов. Есть, естественно, пожелания. В первую очередь, что здесь, что и в литературном обзоре было бы более правильно разделить рисунки на схемы и рисунки, потому что схема - это схема, рисунки - это рисунки. А иногда, когда читаешь «рисунок», там написано «схема», да и рисунков тогда было по количеству меньше и удобнее было бы искать.

В разделе 2.1, который посвящён синтезу гетеродимерных нуклеозидов, в описании «конверсия основания в соответствующие нуклеозиды», есть некоторая путаница в том, как Барбара подписывает изомер. В графиках это (R)- и (S)- отдельно, а изомер, указанный в подписи, это рацемические соединения. Соответственно, здесь приходится уже изучать, что было написано непосредственно в диссертации. Вероятно, делая такую подпись, Барбара для упрощения объединяла (R)- и (S)-, хотя по тексту становится ясно, что (R)- и (S)- отдельно.

Далее в таблице 2, которую Барбара сегодня нам уже показывала в своём докладе, «проведено сравнение противовирусной активности полученных нуклеозидов в отношении вируса герпеса простого типа и устойчивого к действию ацикловира». Здесь вопрос возник в том, что приведённые величины IC50 для всех соединений, за исключением соединения (S)-6, в отношении двух вирусов абсолютно идентичны и нет ошибок. Вероятно, здесь в спешке написали, но, как мне кажется, это важно.

Ещё одно замечание, которое есть по экспериментальной работе, относится к рисунку 17 на странице 61, где приведена «зависимость скоростей синтеза арсената 15b, от момента добавления арсената в реакционную смесь». Там приведены два графика, в нём красным цветом обозначено, когда арсенат вводится в реакцию в начале синтеза, а зачем арсенат добавляется в реакцию через 24 часа после начала синтеза не совсем понятно. Зачем добавлять арсенат через 24 часа уже после? Вероятно, следовало бы сформулировать подпись данного рисунка как «зависимость скорости реакции, синтез данного соединения в присутствии, в отсутствие арсената».

И ещё один вопрос по последней части работы, который связан с флексимерами. Здесь, на рисунке 72, который уже обсуждался, в котором показано участие флексимера 27 в реакции гликозилирования, было бы интересно узнать, почему в ходе синтеза рибозида 30, для которого Барбара подробно изучает образование двух минорных продуктов, идёт так реакция, а в случае соединения 33 образуется лишь один продукт бис-гликозилирования. Здесь это немножечко вынесено за скобки, вероятно есть какие-то исследования, которые ведутся сейчас, но в диссертации они не находят своего отражения.

Чтобы не казалось, что я нашёл только что-то плохое в работе и много замечаний, последняя часть, о которой Барбара рассказывала, который касается флексимерам, вообще редко, когда в диссертационной работе отражается те исследования, которые ещё в принципе не опубликованы. Все то, что она рассказывает новые данные, и я уверен, что она вместе с коллегами из нашего института все это опубликует. И это замечательно, что у неё есть дальнейший вектор исследований, и она об этом рассказывает, даже ещё не опубликовав.

И заключение хочется сказать, что диссертационная работа Елецкой Барбары Златковны на тему «Биосинтез модифицированных нуклеозидов с нетипичными гетероциклическими основаниями», представленная к защите на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 Биоорганическая химия, соответствует критериям, в том числе

пункту 9, установленным «Положением о присуждении учёных степеней», утверждено «Постановлением правительства РФ» от 24.09.2013 №842 со всеми изменениями и дополнениями, а её автор Елецкая Барбара Златковна, безусловно заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 Биоорганическая химия.

Мирошников А.И., председатель: Спасибо вам большое. Пожалуйста.

Елецкая Б.З., соискатель: Спасибо за вопросы, Максим Алексеевич.

Начнём с последнего, у меня подготовлены слайды. Был вопрос по поводу того, почему мы не обнаружили вот этот аминопиридиниевый дезоксирибозид. Вообще процессы дезоксирибозилирования ферментативные протекают со скоростью намного выше, чем получение рибозидов. У нас есть предположение, что в реакционной смеси образуется это соединение, но оно настолько быстро преобразуется в бис-гликозид, что мы в реакционной смеси его не детектируем. Мы пробовали замедлять реакцию, добавлять меньше ферментов, но, к сожалению, не обнаружили продукта. Будем искать другие способы, чтобы замедлить, чтобы LC-MS задетектировать в реакционной смеси это соединение.

Почему же мы поставили опыт при добавлении арсената в начале и при добавлении арсената в конце. На самом деле мы боялись, что при добавлении в начальной точке арсената у нас быстро пройдёт арсенолиз и в реакционной смеси образуется замещённое гетероциклическое основание, которое обладает плохой растворимостью. Мы боялись, что при добавлении арсената в начале, у нас быстро образуется гетероциклическое основание, которое плохой субстрат, чем рибозид, ещё растворимость ниже и выпадет в осадок, у нас синтез пройдёт с низкой конверсией. Зачем же мы добавляли в конце - на самом деле происходит образование 2 продуктов реакции, в конце остаётся там рибозид. Здесь не представлена линия конверсии, сколько осталось рибозида в реакционной смеси, потому что на самом деле арабинозид не предлагается арсенолизу, потом в этой точке мы добавляем - у нас в реакционной смеси резко падает содержание рибозида до нуля. На самом деле можно проводить и таким, и таким способом, но мы все-таки решили добавлять арсенат в начале. Как вы видите, все равно конверсия в конечной точке не изменяется никак. Мы этот эксперимент поставили, чтобы проверить, как добавление арсената влияет на выпадение гетероциклического основания.

Также хотелось бы по поводу таблицы по вирусологии ответить. Мы проконсультировались с исполнителями. Вопрос стоял, что вот у этого соединения (S)-6, вот эти значения полученные разные, а у всех остальных одинаковые. У нас эти данные опубликованы, они также ушли в статью, также было отражено в отчёте вирусологов. Потому что на самом деле они могут быть как одинаковые, если они действуют одинаково, но в этом случае, это исследование на версию герпеса резистентному к ацикловиру, вот такие результаты получились. Это не какая-то техническая ошибка, такие результаты эксперимента. Спасибо.

Мирошников А.И., председатель: Спасибо, коллеги, так кто хочет то сказать? Пожалуйста, Николай Владимирович.

Бовин Н.В.: По поводу самой представленной работы мне кажется, что все ясно. Во всяком случае, мне и, как мне показалось, всему подавляющему большинству, что работа хорошая, её надо поддерживать. И я призываю всех поддерживать.

Вышел я на эту трибуну по другому поводу. Это тоже связано с диссертацией, но с технической стороны, даже не диссертации, а автореферата. Это касается, кстати, предыдущей защиты тоже. Вот те, у кого в руках есть автореферат, посмотрите, пожалуйста, на то, как он напечатан. Я специально посмотрел в правила ВАКа написано, что автореферат печатается кеглем Times New Roman 11, здесь восьмёрка, это даже не десятка. Я понимаю мотивы, хотят вместить как можно больше информации. Но моё предложение Анатолия Ивановичу, как председателю этого совета, в памятку для подзащитных внести вот эти вещи, что автореферат - это не есть копия диссертации, что здесь может быть информации меньше, она должна быть сжата, она должна быть более концентрирована, но правила ВАКа надо соблюдать.

Мирошников А.И., председатель: Согласен, так, ещё кто хотел. Ну, тогда, если желающих нет, то пожалуйста, Барбара.

Елецкая Б.З., соискатель:

В своём последнем слове, я хотела бы сказать благодарности своим оппонентам, которые присутствовали сегодня лично. Мы так отлично разобрали мою работу, мне очень приятно, что вы привели такое внимание к моей работе. Коллективу моей лаборатории, в особенности моему руководителю Константиновой Ирине Дмитриевне, Мирошникову Анатолию Ивановичу как руководителю нашего отдела, который когда-то подал идею работы с нуклеозидфосфорилазами. Также огромное спасибо Роману Станиславовичу Есипову, безграничному количеству его ферментов, которые мы можем использовать в неограниченном количестве. Замечательно, что ранее были получены кристаллографические структуры, которые позволили мне провести молекулярное моделирование с новыми флексимерными основаниями. Также хочется сказать спасибо всем, кто участвовал в определении активности моих соединений, Андроновой В.Л. из Института вирусологии, Жуковой О.С. из РОНЦ имени Н.Н. Блохина. Также огромное спасибо хочется сказать Краснову Виктору Павловичу, который начал первую серию гетероциклических пуриновых нуклеозидов, начал нам поставлять их для дальнейшего гликозилирования. Его лаборатория предоставляет нам неограниченное количество различных гетероциклических оснований. Также самое, могу сказать огромное спасибо Елене Матюгиной, которая присутствует в данном зале. Благодаря ей и Анастасии Хандажинской, появилась эта замечательная часть по флексимерным нуклеозидам. Да, эта часть последняя будет опубликована, потому, что пока мы оформляли эту работу, мы с ними выпустили ещё две статьи, эта, к сожалению, подзадержалась. И также большое спасибо я хочу сказать не присутствующим здесь Винокурову Леониду Михайловичу и Возняку Владимиру Максимовичу, которые позволили мне долгое время работать в центре по испытанию сертификации продукции ИЛ-Тест Пушкино. Также огромное спасибо. сказать коллективу опытного биотехнологического производства, которого тоже мне повезло работать. Спасибо ИБХ, я здесь работаю уже долгие 12 лет. Вот и надеюсь, что плодотворно буду работать и дальше.

Мирошников А.И., председатель: Спасибо. Так, коллеги, у нас теперь следующее - это голосование... Пожалуйста, голосуем.
(идет тайное голосование)

Олейников В.А., учёный секретарь: (оглашает результаты работы счетной комиссии).
Елецкая Барбара Златковна. Присутствовало 22 человека, роздано 22, оказалось в урне бюллетеней 22, за - 22, против и недействительных нет.

Мирошников А.И., председатель: Утверждаем? Спасибо.

(Идет обсуждение проекта заключения диссертационного совета. Бовин Н.В. предлагает внести незначительные редакторские изменения в текст заключения. С учётом этого диссертационный совет единогласно принимает заключение.)

Мирошников А.И., председатель: Поздравим всех. Ура! Спасибо.

Председатель
диссертационного совета

д.х.н., академик РАН Мирошников А.И.

Учёный секретарь
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников. В.А

