

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.037.01,  
созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук (ИБХ РАН),  
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета от 20 декабря 2023 г. № 32

О присуждении **Елецкой Барбаре Златковне**, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Биосинтез модифицированных нуклеозидов с нетипичными гетероциклическими основаниями» по специальности 1.4.9 Биоорганическая химия принята к защите 09.10.2023 (протокол заседания №25) диссертационным советом 24.1.037.01, созданным на базе ФГБУН Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), 117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10, номер и дата приказа о создании диссертационного совета №75/нк от 15.02.2013.

Соискатель Елецкая Барбара Златковна, 07 июня 1991 года рождения. В 2014 году окончила Московский государственный университет тонких химических технологий (МИТХТ). Программа бакалавриата по направлению «Химическая технология и биотехнология». Программа магистратуры по направлению подготовки 240700 «Биотехнология». В 2018 году соискатель окончила аспирантуру Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «МИРЭА - Российский технологический университет по направлению 04.06.01 «Химические науки», профиль 02.00.10 «Биоорганическая химия». В настоящий момент работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории биосинтеза низкомолекулярных физиологически активных соединений Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории биосинтеза низкомолекулярных физиологически активных соединений отдела биотехнологии ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

**Научный руководитель** – кандидат химических наук, **Константинова Ирина Дмитриевна**, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории биосинтеза низкомолекулярных физиологически активных соединений отдела биотехнологии ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

**Официальные оппоненты:**

**Готтих Марина Борисовна**, доктор химических наук, профессор, заведующая отделом химии нуклеиновых кислот Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского (НИИФХБ) Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, и **Хомутов Максим Алексеевич**, кандидат

химических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярных основ действия физиологически активных соединений ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, дали *положительные* отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН), г. Новосибирск, в своем *положительном* отзыве, подписанном Сильниковым Владимиром Николаевичем, доктором химических наук, главным научным сотрудником лаборатории органического синтеза ИХБФМ СО РАН, и утвержденном и.о. директора института кандидатом химических наук., доцентом Ковалем Владимиром Васильевичем, указала, что диссертация Елецкой Барбары Златковны «Биосинтез модифицированных нуклеозидов с нетипичными гетероциклическими основаниями» представляет собой законченную научно-квалификационную работу и соответствует всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями, внесенными Постановлениями Правительства РФ от от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 26.05.2020 № 751, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539; от 26.09.2022 г. № 1690; от 26.01.2023 г. № 101), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия.

Соискатель имеет 15 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 5 работ (4 статьи, 1 патент), из них 4 работы общим объемом 5 печ.л. в рецензируемых научных изданиях, входящих в базы SCOPUS и Web of Science. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные работы, в которые Елецкая Б.З. внесла основной или существенный вклад:

1. **Barbara Z. Eletsckaya**, Irina D. Konstantinova, Alexander S. Paramonov, Roman S. Esipov, Dmitry A. Gruzdev, Alexey Yu. Vigorov, Galina L. Levit, Anatoly I. Miroshnikov, Victor P. Krasnov, and Valery N. Charushin. Chemoenzymatic arabinosylation of 2-aminopurines bearing the chiral fragment of 7,8-difluoro-3,4-dihydro-3-methyl-2H-[1,4]benzoxazines. *Mendeleev Communications*, 2016, 26, 6-8 I.F. 1.694 Q3
2. **Barbara Z. Eletsckaya**, Dmitry A. Gruzdev, Victor P. Krasnov, Galina L. Levit, Maria A. Kostromina, Alexander S. Paramonov, Alexei L. Kayushin, Inessa S. Muzyka, Tatyana I. Muravyova, Roman S. Esipov, Valeria L. Andronova, Georgiy A. Galegov, Valery N. Charushin, Anatoly I. Miroshnikov, Irina D. Konstantinova. Enzymatic synthesis of novel purine nucleosides bearing a chiral benzoxazine fragment. *Chemical Biology & Drug Design*, 2019, 93, 605-616. I.F. 2.548 Q3
3. Anastasia Khandazhinskaya, **Barbara Eletsckaya**, Ilja Fateev, Maria Kharitonova, Irina Konstantinova, Vladimir Barai, Alex Azhayev, Mervi T. Hyvonen, Tuomo A. Keinanen, Sergey Kochetkov, Katherine Seley-Radtke, Alex Khomutov, Elena Matyugina, Novel fleximer pyrazole-containing adenosine analogues: chemical, enzymatic and highly efficient biotechnological synthesis. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2021, 19 (34), 7379-7389 I.F. 3.876 Q1

4. **Eletsckaya, B.Z.**; Berzina, M.Y.; Fateev, I.V.; Kayushin, A.L.; Dorofeeva, E.V.; Lutonina, O.I.; Zorina, E.A.; Antonov, K.V.; Paramonov, A.S.; Muzyka, I.S.; et al. Enzymatic Synthesis of 2-Chloropurine Arabinonucleosides with Chiral Amino Acid Amides at the C6 Position and an Evaluation of Antiproliferative Activity In Vitro. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24, 6223. IF 6.208 Q1

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

Отзыв официального оппонента д.х.н. **Готтих Марины Борисовны**. Отзыв положительный, содержит следующие замечания и вопросы:

1. В первую очередь, необходимо указать на несколько ошибок в названии нуклеозидов (на стр. 18 9-β-D-арабинофуранозиаденозин назван 1-β-D-арабинофуранозиаденозином), и в написании структурных формул декойинина и пикофуранина: они представлены в виде L-изомеров.

2. В разделе «Исследование противовирусной активности бензоксазиновых нуклеозидов Серии I» в диссертации присутствует таблица, в которой приведены значения цитотоксичности и противовирусной активности нуклеозидов, и текст с некоторыми комментариями. В автореферате таблица отсутствует, а в приведенных комментариях нет конкретных значений активности соединений. В результате, читая только автореферат, невозможно оценить уровень противовирусной активности исследуемых соединений.

3. В разделе, посвященном синтезу соединений из второй серии (стр. 57 диссертации и 9 автореферата) присутствуют два предложения, которые, по мнению оппонента, несколько противоречат друг другу: «Лучшим донором арабинозы оказался AraU: концентрация продукта в смеси достигала 82% (по данным ВЭЖХ) при пятикратном избытке донора AraU (зеленая линия тренда). Конверсия рибозида в арабинозид была максимальной (до 90 % за 5 дней) при 5-кратном избытке AraU». Непонятно, какой же была конверсия: 82 или 90%?

4. На стр. 65 диссертации и 12 автореферата в разделе, посвященном исследованию устойчивости полученных арабинозидов к действию аденозиндезаминазы *E. coli*, присутствует предложение «При изучении кинетики фосфоролита аденозина в присутствии изучаемых аналогов, было показано, что соединения являются конкурентными ингибиторами». Не очень понятно, о каком фосфоролите идет речь. Скорее всего диссертант просто написал «фосфоролит» вместо «дезаминирования». Но главный вопрос к этому разделу в другом. Елецкая Б.З. сначала пишет, что атом хлора/фтора в положении С2 пурина предотвращает связывание нуклеозидов с активным центром аденозиндезаминазы, а затем утверждает, что три исследуемых соединения, 23, 24 и 12b, являются конкурентными ингибиторами этого фермента. Все эти соединения содержат атом хлора в положении С2, поэтому непонятно, как соединения, которые не связываются с активным центром аденозиндезаминазы, могут быть ее конкурентными ингибиторами.

5. И наконец, в работе Елецкой Б.З. большое внимание уделено анализу механизма получения побочных продуктов при реакции трансгликозилирования 4-(4-аминопиридин-

3-ил)-1H-пиразола (соединение 27) и для подтверждения предложенного механизма проведено моделирование взаимодействий этого соединения с аминокислотными остатками в активном центре пуридиннуклеозидфосфорилазы *E. coli*. Эта красивая часть работы стала бы еще красивее и веселее, если бы Елецкая Б.З. смоделировала расположение в активном центре фермента соединений 28 и 29, при получении которых побочных продуктов не образуется. Этот эксперимент позволил бы лучше понять причину образования побочных продуктов именно в случае 4-(4-аминопиридин-3-ил)-1H-пиразола.

6. Помимо этого, в работе присутствует некоторое число явно неудачных выражений., для раздела «Моделирование взаимодействия флексимеров в активном сайте PNP *E. coli*», поскольку необходимо было указать взаимодействие с чем. В предложении «...образовании водородной связи между протоном и Asp204» необходимо было указать донор этого самого протона.

Отзыв официального оппонента к.х.н. **Хомутова Максима Алексеевича**. Отзыв положительный, содержит следующие замечания и вопросы:

1. В литературном обзоре встречаются высказывания, не подкрепленные ссылками на соответствующие литературные источники. Также отмечены неудачные формулировки, включая "терапия инфекций", а также неправильное использование термина "ретро-синтез", который не соответствует данному контексту.

2. На стр. 47-48 в подписях к Рис. 4, 5 и 6 Автор использует (R,S)-обозначения, что соответствует рацемической форме. При этом на Рис. 4, 5 и 6 указаны индивидуальные изомеры соответствующих соединений.

3. На стр. 50 Автор пишет: «неприродный углеводный остаток - арабинозу». Арабиноза представляет собой природный моносахарид.

4. На стр. 54, Табл. 2 приведена сравнительная противовирусная активность полученных нуклеотидов в отношении вируса герпеса простого типа 1 (ВПГ-1/L<sub>2</sub>) и вируса герпеса ВПГ-1/L<sub>2</sub>/R, устойчивого к действию ацикловира. Следует отметить, что в соответствующем разделе Автореферата на стр.8 Автор не приводит ни одного полученного значения противовирусной активности.

5. На стр. 61, рис. 17, Автор приводит «Зависимость скорости синтеза арабинозида 15b от момента добавления арсената в реакционную смесь. Красная линия: арсенат добавлен в реакцию в начале синтеза. Фиолетовая линия: арсенат добавлен в реакцию через 24 часа после начала синтеза». Не совсем понятно, зачем проводить прибавления арсената на 24 часу эксперимента после окончания реакции. Вероятно, стоило назвать данный рисунок как: «зависимость скорости синтеза соединения 15b в присутствии и отсутствии арсената».

6. На стр. 69-70 Автор не структуры и синтез арабинозидов 36-38, исходя из Рис.25 (см. стр.70) становится ясно, что конверсия оснований 27-29 в арабинозиды 36-38 минимальна. Автору следовало бы в тексте дать ссылку на этот рисунок, а также привести схему синтеза соответствующих арабинозидов.

7. На стр. 72 Автор приводит Рис. 28, который иллюстрирует образование побочных продуктов. Было бы интересно узнать, почему в ходе синтеза рибозида 30

происходит образование двух минорных продуктов, а в случае 2'-дезоксирибозидов 33 побочно образуется лишь продукт бис-гликозилирования.

**Отзыв ведущей организации.** Отзыв положительный, содержит следующие замечания и вопросы:

1). Со страницы 54 и далее обнаружено задвоение нумерации в верхнем и нижнем колонтитулах. 2). На странице 15 структурная формула Марибавира неправильно представлена как И-нуклеозид, вместо корректного L-нуклеозида. 3). Текст диссертации содержит некоторые стилистические ошибки, повторы выражений внутри одного предложения, избыточное использование сложных фразеологических конструкций. 4). В экспериментальной части на стр. 88 и 89 указано, что выходы для соединений серий 1,2 и 3 приведены в таблицах 8, 10 и 12, соответственно. Однако в этих таблицах приведены данные о конверсии соединений по данным ВЭЖХ. Выходы в (% и мг) приведены в таблицах 9,11,13. 5). В таблице 12, 1 столбец название столбца не соответствует содержанию (нет данных г/моль). 6). некорректные выражения. Так, например, на стр. 50: «...неприродный углеводный остаток - арабинозу» Арабиноза - широко распространенный природный углевод

**Отзыв на автореферат** заместителя директора по научной работе Института органического синтеза им. И.Я. Постовского, доктора химических наук, **Бургарт Янины Валерьевны**. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1). Почему для получения флексимерных нуклеозидов были выбраны производные на основе пиразола, а не имидазола, который обычно входит в состав аналогов нуклеозидов пуринового ряда? 2). Автореферат содержит ряд опечаток и ошибок в нумерации соединений.

**Отзыв на автореферат** доцента кафедры Биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова РТУ МИРЭА, кандидата химических наук, **Матвеева Андрея Валерьевича**. Отзыв положительный, не содержит замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными достижениями в области биоорганической химии, а именно в синтезе аналогов нуклеозидов, а также изучения биологической активности полученных соединений (противовирусных свойств, взаимодействий с ферментами нуклеинового обмена), которые подтверждены серией их публикаций в ведущих российских и международных журналах. Оппоненты и представители ведущей организации обладают большим опытом исследовательской и экспертной работы и высокой квалификацией, которые позволяют им объективно оценить степень научной новизны результатов диссертационной работы, а также ее теоретическую и практическую значимость.

Диссертационный совет отмечает, что на основании результатов выполненных соискателем исследований был предложен ряд новых подходов к синтезу модифицированных нуклеозидов. Проведенное соискателем исследование позволило создать библиотеку новых модифицированных нуклеозидов для изучения их биологической активности и выявить среди них соединения, обладающие антипролиферативной, антивирусной или антимикробной активностью. Полученная

информация о модификациях, ведущих к проявлению того или иного типа активности или изменению биодоступности аналогов нуклеозидов, позволило выявить зависимость «структура-активность» в ряду синтезированных соединений, что необходимо при разработке лекарственных препаратов на основе модифицированных нуклеозидов.

**Теоретическая значимость** исследования заключается в следующем: расширены представления о возможностях ферментативного синтеза модифицированных нуклеозидов с нетипичными гетероциклическими основаниями трёх типов. Для достижения более полного понимания механизма функционирования активного центра PNP *E. coli* проведен предварительный анализ активного центра. С помощью методов компьютерного моделирования предсказаны оптимальные структуры комплексов новых субстратов и аминокислотных остатков, образующих активный центр фермента.

Создана модель для изучения субстратной специфичности аденозиндезаминазы (ADA) *E. coli* и ADA из кишечника телят (*CI*) в отношении синтезированных модифицированных нуклеозидов.

**Значение** полученных соискателем результатов исследования заключается в разработке биокаталитического подхода к синтезу модифицированных нуклеозидов и создании библиотеки новых аналогов. В ходе исследования соискателя были выявлены активные соединения, обладающие антипролиферативной, противовирусной и антимикробной активностью. Эти результаты являются существенным шагом в процессе разработки новых препаратов с усовершенствованными характеристиками для проведения биохимических и медицинских исследований, что придает высокую актуальность и практическое значение данному исследованию.

**Достоверность результатов исследования** обеспечивается использованием современных научных методов. Структура синтезированных соединений была подтверждена с применением полного набора физико-химических методов исследования, включая одномерную и двухмерную ЯМР-спектроскопию, а также масс-спектрометрию высокого разрешения. В экспериментальной части представлено детальное описание всех использованных методов, а в приложениях представлены спектры ЯМР для всех новых веществ. Обоснованность выводов диссертации основана на анализе и обобщении результатов проведенных экспериментов, а также данных из литературных источников, касающихся рассматриваемых проблем. Выводы, сформулированные в диссертации, соответствуют поставленной цели и задачам исследования.

**Личный вклад** соискателя состоит в участии на всех этапах исследовательского процесса: разработке целей и решения задач научного исследования, сборе и анализе полученных экспериментальных данных, активном участии в апробации полученных результатов на научных конференциях и подготовке основных публикаций по данной теме. Вклад соискателя в исследование охватывает как технические аспекты, так и широкий спектр других видов деятельности, включая обмен опытом и обсуждение научных результатов в рамках научного сообщества. Экспериментальные данные, используемые в исследовании, были лично получены автором или под его непосредственным участием. Исключением является регистрация спектров ЯМР, которая была выполнена к.ф.-м.н. Парамоновым А.С. из лаборатории структурной биологии

ионных каналов Института биофизики и клеточной инженерии Российской академии наук ИБХ РАН, и масс-спектров, проведенная Антоновым К.В. из лаборатории биосинтеза низкомолекулярных физиологически активных соединений ИБХ РАН. Тестирование антивирусной активности синтезированных нуклеозидов было проведено к.б.н. Андроновой В.Л. из Института вирусологии имени Д.И. Ивановского ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. Исследование цитотоксической активности было осуществлено к.м.н. Жуковой О.С. из Лаборатории клеточного иммунитета НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей Федерального государственного бюджетного учреждения Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина. Оценка антивирусной активности флексимерных аналогов была проведена в Институте медицинских исследований Rega в Левене, Бельгия. Антибактериальная активность была исследована в Научно-исследовательском Институте по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе.

Исходя из вышеизложенного, диссертационный совет заключает, что диссертация Елецкой Б.З. является законченной научно-квалификационной работой, результаты которой имеют важное значение для развития биоорганической химии. Работа написана автором самостоятельно и содержит новые и актуальные научные результаты. Таким образом, диссертационная работа Елецкой Барбары Златковны «Биосинтез модифицированных нуклеозидов с нетипичными гетероциклическими основаниями», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия, соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденном Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 г. № 1539; 26.09.2022 г. №1690; 26.01.2023 г. №101).

В ходе защиты диссертации были задан уточняющий вопрос:

Чем обусловлен выбор конкретно этих трёх групп гетероциклических оснований для последующего трансгликозилирования?

Соискатель Елецкая Б.З. ответила на заданный ей вопрос и привела собственную аргументацию:

Гетероциклические основания Серии 1 с бензоксазиновыми заместителями, проявляли низкую противовирусную активность и плохую растворимость. Гликозилирование этих пуриновых гетероциклических оснований было выбрано в качестве стратегии для повышения их растворимости и успешной интеграции в нуклеозидный обмен. Относительно флексимерных оснований Серии 3, представляющих собой аналоги 7-аза-8-дезаза-аденина, обладающего широким спектром антибактериальной активности, получение их нуклеозидов было направлено на дальнейшее изучение биологической активности. Также исследование возможности синтеза нуклеозидов из представленных модифицированных оснований с использованием пурииннуклеозидфосфорилазы *E.coli* значительно расширило наши знания о субстратной специфичности этого фермента.

На заседании 20 декабря 2023 г. диссертационный совет принял решение за разработку биосинтетического подхода к синтезу модифицированных нуклеозидов с нетипичными гетероциклическими основаниями присудить Елецкой Барбаре Златковне учёную степень кандидата наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 5 докторов наук (по научной специальности рассматриваемой диссертации 1.4.9 – Биоорганическая химия), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 22, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель  
диссертационного совета  
академик



  
Мирошников Анатолий Иванович

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
д.ф.-м.н.

  
Олейников Владимир Александрович

20.12.2023 г.