

В диссертационный совет 24.1.092.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата химических наук при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН

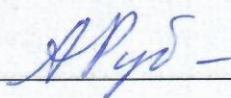
СОГЛАСИЕ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Я, Рубина Алла Юрьевна, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологических микрочипов, руководитель группы белковых биочипов ФГБУН «Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда» РАН согласна выступить официальным оппонентом диссертационной работы Авдеева Дмитрия Викторовича: **«Новый подход к синтезу биологически активных пептидов с дисульфидными связями»** на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия и предоставить отзыв в диссертационный совет 24.1.092.01 при ИОХ им. Н. Д. Зелинского РАН в установленном порядке.

В соответствии с Федеральным законом от 27.07.2006 № 152-ФЗ «О персональных данных» настоящим даю согласие на обработку моих персональных данных в целях включения в аттестационное дело для защиты диссертации соискателя. Согласие распространяется на следующие персональные данные: фамилия, имя, отчество; ученая степень; ученое звание; шифр специальности, по которой защищена диссертация; место основной работы; должность; контактный телефон, e-mail; научные публикации.

Также подтверждаю, что даю согласие на размещение полного текста отзыва на диссертацию и сведений об официальном оппоненте на сайте (портале) Института органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской Академии Наук в информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» по адресу <https://zioc.ru/events/novosti-dissertacionnyix-sovetov> с момента подписания настоящего согласия.

кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологических микрочипов, ФГБУН «Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда» РАН



А.Ю. Рубина

Подпись к.х.н. А.Ю. Рубинной удостоверяю

Ученый секретарь



А.А. Бочаров

24.12.2023г.



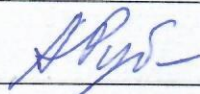
Сведения об официальном оппоненте
 по диссертации Авдеева Дмитрия Викторовича
 «Новый подход к синтезу биологически активных пептидов с дисульфидными
 связями» по специальности 1.4.9 – биорганическая химия
 на соискание ученой степени кандидата химических наук

Фамилия, имя, отчество	Рубина Алла Юрьевна
Гражданство	РФ
Ученая степень, наименование отрасли науки, научных специальностей, по которым защищена диссертация	Кандидат химических наук (02.00.10)
Ученое звание	Без ученого звания
Полное наименование организации в соответствии с уставом	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда» Российской академии наук
Сокращенное наименование организации в соответствии с уставом	ФГБУН ИМБ РАН
Ведомственная принадлежность организации	Российская академия наук
Полное наименование кафедры	Лаборатория биологических микрочипов
Почтовый индекс, адрес организации	119991 Москва, ул. Вавилова, 32
Веб-сайт	https://www.eimb.ru/ru1/main.php
Телефон	+7 916 188 83 98
Адрес электронной почты	allarubina@hotmail.com
Список основных публикаций в рецензируемых изданиях за последние пять лет	1. Смолдовская О.В., Волошин С.А., Новиков А.А., Александрова Е.Н., Фейзханова Г.У., Рубина А.Ю. //Адаптация биологического микрочипа для анализа сывороточного амилоидного белка А в сыворотке крови человека// Молекулярная биология (2022), V.56, №2, Р.336 – 342.

2. Фейзханова Г.У., Волошин С.А., Новиков А.А., Александрова Е.Н., Смолдовская О.В., **Рубина А.Ю.** // Определение ревматоидного фактора и белков острой фазы воспаления на биочипах у пациентов с ревматоидным артритом// Клиническая Лабораторная Диагностика (2022), V. 67, № 1 , P. 43 - 47
3. Multiple biomarker approach for the diagnosis and therapy of rheumatoid arthritis // Savvateeva E., Smoldovskaya O., Feyzkhanova G., **Rubina A.** // Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences. 2021. – V. 58. – № 1. – P. 17-28.
4. Мультиплексный метод определения биомаркеров воспаления в культуральной среде // Волошин С. А., Фейзханова Г. У., Савватеева Е. Н., Смолдовская О. В., **Рубина А. Ю** // Молекулярная биология. – 2020. – V. 54. – № 6. – P. 1046-1056.
5. Glycan-specific antibodies as potential cancer biomarkers: A focus on microarray applications // Tikhonov A, Smoldovskaya O, Feyzkhanova G, Kushlinskii N, **Rubina A.** // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). – 2020. – V. 58. – №. 10. – P. 1611-1622.
6. Biomarkers of community-acquired pneumonia: a key to disease diagnosis and management // Savvateeva E. N., **Rubina A. Y.**, Gryadunov D. A // BioMed Research International. – 2019. – V. 2019.
7. Analysis of anti-glycan IgG and IgM antibodies in colorectal cancer // Tikhonov A. A., Savvateeva E. N., Chernichenko M. A., Maslennikov V. V., Sidorov D. V., **Rubina A. Y.**, Kushlinskii N. E. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2019.

	<p>– V. 166. – P. 489-493.</p> <p>8. Антигликановые антитела в диагностике онкологических заболеваний // Тихонов А. А., Бутвилловская В. И., Фейзханова Г. У., Кушлинский Н. Е., <u>Рубина А. Ю.</u> // Acta Naturae (русскоязычная версия). – 2019. – Т. 11. – № S2. – С. 278.</p>
Являетесь ли Вы работником Института органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской Академии Наук (в том числе по совместительству)?	Не являюсь
Являетесь ли Вы работником (в том числе по совместительству) организации, где работает соискатель ученой степени, его научный руководитель?	Не являюсь
Являетесь ли Вы работником (в том числе по совместительству) организаций, где ведутся научно-исследовательские работы, по которым соискатель ученой степени является руководителем или работником организации-заказчика или исполнителем (соисполнителем)?	Не являюсь
Являетесь ли Вы членом Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования науки Российской Федерации?	Не являюсь
Являетесь ли Вы членом экспертных советов Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования науки Российской Федерации?	Не являюсь
Являетесь ли Вы членом диссертационного совета,	Не являюсь

принявшего диссертацию к защите?	
Являетесь ли Вы соавтором соискателя степени по опубликованным работам по теме диссертационного исследования?	Не являюсь

 / Рубина А. Ю.

Подпись к.х.н. Рубиной А. Ю. удостоверяю
Ученый секретарь ФГБУН «Института молекулярной
биологии им. В.А. Энгельгарда» РАН
Бочаров А. А.



«01» февраля 2024 г.

Отзыв официального оппонента Рубиной Аллы Юрьевны о
диссертационной работе **Авдеева Дмитрия Викторовича**
«**НОВЫЙ ПОДХОД К СИНТЕЗУ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ С**
ДИСУЛЬФИДНЫМИ СВЯЗЯМИ»

представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по
специальности 1.4.9 – «Биоорганическая химия»

Актуальность темы. Представленная диссертация посвящена разработке практических методов химического синтеза физиологически активных пептидов с внутримолекулярной дисульфидной связью. Соединения этой группы принимают участие в регуляции многих физиологических процессов в организме человека и, будучи эндогенными лигандами для ряда молекулярных мишеней, являются естественной отправной точкой для создания лекарств. В настоящее время важное место на фармацевтическом рынке пептидных препаратов занимают аналоги пептидных гормонов: окситоцина, вазопрессина и соматостатина, на базе которых созданы препараты атозибан, десмопрессин, терлирессин, октреотид и др., входящие в «Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения». Сегодня подавляющее большинство пептидных терапевтических препаратов получают химическим синтезом. Следует отметить, что химический синтез пептидов с внутримолекулярными дисульфидными связями до сих пор является достаточно сложной задачей, особенно при крупномасштабном получении таких соединений. Поэтому разработка высокоэффективного способа получения пептидов с внутримолекулярным S-S-мостиком является актуальной задачей биоорганической химии, особенно сегодня, когда потребность в отечественных фармацевтических субстанциях возрастает.

Научная новизна представленной работы. В представленной работе применение двух известных подходов: проведение всех стадий синтеза на нерастворимой полимерной подложке и прямое одностадийное превращение S-защищенного линейного предшественника соответствующего пептида в циклический дисульфид действием иода также на твердой фазе позволило автору получить качественно новый результат – синтезировать ряд аналогов нейрогипофизарных гормонов фармакопейного качества в препаративных количествах. Препараты терлипрессина и десмопрессина получены полностью твердофазным методом впервые. Предложенная автором методика существенно упрощает процесс получения аналогов нейрогипофизарных гормонов и соматостатина, снимает проблему плохой растворимости лабильных промежуточных и побочных продуктов, обеспечивает воспроизводимость результатов и технологичность

процесса в целом, добавляя ему гибкость и делая возможной его полную автоматизацию. Новый подход в изучении деталей замыкания дисульфидной связи в выбранных пептидах, в особенности, выяснение влияния N-концевой аминогруппы на результат циклизации на твердой фазе, обеспечил соискателю возможность получения технических продуктов не менее 90% чистоты, практически не содержащих трудноотделимых родственных примесей. Новым подходом является также привлечение молекулярного моделирования для объяснения полученных экспериментальных данных и подтверждения предлагаемой схемы замыкания внутримолекулярной S-S связи в аналогах соматостатина и нейрогипофизарных гормонов на полимерных носителях.

Практическая значимость. Полученные в работе результаты и разработанная методология, сочетающая преимущества твердофазного синтеза с замыканием дисульфидной связи прямой конверсией защищённых тиолов в цикл, могут быть применены для синтеза циклических дисульфидов различной структуры, в том числе содержащих чувствительные к окислению аминокислотные остатки тирозина и триптофана. Тот факт, что модификация N-концевой аминогруппы в линейном S-защищенном пептидном предшественнике на твердой фазе существенно облегчает замыкание дисульфидного мостика в этом соединении, открывает возможность простого получения циклических пептидов, конъюгированных с соединениями непептидной природы: хелаторами, хромофорами, биотином и т.п., которые находят широкое применение в медико-биологических исследованиях. Данный метод пригоден для синтеза флуоресцентных зондов, предшественников радиофармацевтических препаратов для на основе пептидов, бифункциональных конъюгатов для адресной доставки лекарственных препаратов к клеточным мишеням. Разработанные методы могут быть использованы в органической, биоорганической, медицинской химии и фармацевтической промышленности.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Работа выполнена на современном методическом уровне с привлечением физико-химических методов для подтверждения структуры синтезированных соединений. Для изучения автором выбраны применяющиеся в клинической практике аналоги нейрогипофизарных гормонов (окситоцин, атозибан, дезаминоокситоцин, десмопрессин и терлипрессин) и гормона соматостатина (Tyr³-октреотейт и DOTA- TATE). Для синтеза всех соединений проведен твердофазный синтез линейных предшественников и твердофазная циклизация действием иода. Для всех пептидов, за исключением дезаминоаналогов, замыкание S-S-мостиков на полимерном носителе проводили двояко, исходя из аминокислотных и N^α-замещенных линейных предшественников. Диссертантом

проведена сравнительная оценка растворителей, пригодных для твердофазной циклизации пептидов, определен рабочий диапазон избытков окислителя, оптимальное время проведения реакции и температуры. Выводы, сформулированные в диссертации, полностью соответствуют положениям и результатам, выносимым на защиту. Выводы подтверждаются экспериментальными данными. Интересно отметить, что молекулярное моделирование процесса твердофазной циклизации, привлеченное автором для объяснения полученных экспериментально результатов, подтвердило опытные данные.

Достоверность. Диссертационная работа Авдеева Д.В. выполнена на высоком научном и экспериментальном уровне (аналитическая и препаративная ВЭЖХ, масс-спектрометрия высокого разрешения, молекулярное моделирование), полученные результаты отмечены высоким уровнем доказательности. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

К числу наиболее важных научно-практических достижений рецензируемой работы можно отнести следующие:

1. Разработан новый подход к замыканию внутримолекулярной дисульфидной связи в регуляторных пептидах на полимерном носителе, который отличается простотой проведения эксперимента, воспроизводимостью результатов, и может быть применен для получения фармакопейных препаратов в промышленных масштабах.
2. Изучены и оптимизированы условия замыкания S-S мостика на полимере для аналогов соматостатина и нейрогипофизарных гормонов: окситоцина, D-Arg8 - вазопрессина, дезаминоокситоцина, атозибана, десмопрессина, терлипрессина, Tgr3 -окреотэйтa и DOTA-TATE.
3. Впервые экспериментально и с помощью молекулярного моделирования показано влияние свободной и Вос-защищённой N-концевой аминокислотной группы на выход продукта прямого превращения Tgr3-защищённого предшественника в циклический дисульфид под действием иода.
4. С помощью молекулярного моделирования была подтверждена предлагаемая схема замыкания внутримолекулярной S-S связи, что найдет применение при изучении аналогов соматостатина и нейрогипофизарных гормонов.
5. Показано, что высокая чистота технических продуктов твердофазной циклизации (более 90 % по данным ВЭЖХ) позволяет легко получить препараты фармакопейного качества.
6. Проведено масштабирование процесса циклизации с целью получения нейрогипофизарных гормонов, их аналогов и аналогов гормона соматостатина с ВЫСОКИМИ ВЫХОДАМИ.

Тема хорошо составленного «Литературного обзора» коррелирует с экспериментальным материалом исследования. Используемые в работе методики грамотно описаны в разделе «Экспериментальная часть».

Диссертационная работа Д.В. Авдеева имеет традиционную структуру. Материал диссертации изложен на 143 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, результатов и их обсуждения, экспериментальной части, выводов, списка литературы. Библиографический список состоит из 348 наименований. Диссертация содержит 8 таблиц, 7 схем и 27 рисунков.

В литературном обзоре собран обширный материал о распространении пептидов с внутримолекулярными дисульфидными связями в живых системах, о структурно-функциональных особенностях этой группы природных соединений. Современный фактический материал компактно представлен в двух таблицах. Большое внимание уделено зарегистрированным лекарственным препаратам с дисульфидными мостиками в молекулах, приведены данные о мишенях их воздействия, областях применения, способах введения и дозах; проанализирована роль S-S связей в стабилизации пространственной структуры пептидов, влиянии на их физиологическую активность и протеолитическую стабильность. В обзоре приводятся интересные данные о новых пептидах, находящихся на завершающих стадиях клинических испытаний, и предназначенных для терапии редких заболеваний и заболеваний, для которых ещё не найдены удовлетворительные методы диагностики и лечения. Обзор занимает 52 страницы диссертации и охватывает 284 литературных источников. Обзор показывает, что пептиды с дисульфидными связями играют важную роль на современном фармацевтическом рынке и обосновывает необходимость и актуальность разработки методик их химического синтеза.

Автореферат и публикации. Основное содержание диссертационного исследования отражено в 7 работах, в том числе в 3 статьях, опубликованных в рецензируемых научных журналах, и в 4 тезисах докладов на российских и международных конференциях.

Заключение. Таким образом, на основании анализа текста работы и публикаций автора можно утверждать, что цель работы, сформулированная в разделе «Введение», автором достигнута. Представленные в работе научные положения, выводы и рекомендации являются обоснованными. Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации, которое соответствует теме диссертации и научной специальности.

В диссертации мною не обнаружено существенных недостатков. По оформлению работы могут быть сделаны следующие замечания:

- 1) В экспериментальной части нет информации об аппаратном оформлении циклизации пептидов на твёрдой фазе
- 2) Экспериментальную часть можно было бы расширить данными спектроскопии ^1H -ЯМР, которые приведены для идентификации продуктов синтеза в опубликованных автором работах DOI: 10.31857/S013234232106004X.
- 3) Отмечено некоторое количество стилистических шероховатостей и неточностей, что связано, главным образом, с неуместным использованием внутрилабораторного сленга.
- 4) В работе имеется незначительное количество опечаток, не сказывающихся на понимании приведённых данных.

В целом, несмотря на отмеченные замечания, диссертация представляет собой завершённую объёмную научно-исследовательскую работу, выполненную на высоком научном уровне, на актуальную тему, разрабатываемую во многих лабораториях. Результаты работы Авдеева Д.В. могут быть использованы при выполнении различных научно-исследовательских работ в области пептидов в системе Российской академии наук и Высшей школы и других научных учреждениях.

Диссертационная работа по своей научной новизне, практической значимости, достоверности результатов и обоснованности выводов удовлетворяет всем требованиям «Положения о порядке присуждения учёных 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; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426, 26 октября №1786), а её автор Авдеев Дмитрий Викторович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 — биоорганическая химия.

Официальный оппонент:

к.х.н., ведущий научный сотрудник
лаборатории биологических микрочипов,
руководитель группы белковых биочипов
ФГБУН «Института молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгарда» РАН
«09» февраля 2024 г



Рубина Алла Юрьевна

Почтовый адрес: 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32
Email: allarubina@hotmail.com

Подпись Рубиной А.Ю.
Ученый секретарь ИМБ РАН

УДОСТОВЕРЯЮ

Бочаров Александр Анатольевич