



ФЕДЕРАЛЬНОЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ АГЕНТСТВО
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
«ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ»
(ФГБУ «ГНЦ ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ» ФМБА РОССИИ)

Каширское шоссе, д. 24,
Москва, 115522

тел.: 8 499-311-67-78

8 499-617-10-27

факс: 8 499-612-81-51

E-mail: info@nrcii.ru

www.nrcii.ru

от 23.09.2024 г. № 13-01/12

на № _____ от _____ 20 ____ г.

Председателю диссертационного совета
24.1.092.01 Института органической
химии им. Н.Д. Зелинского РАН
академику РАН
М.П. Егорову

Уважаемый Михаил Петрович!

В ответ на Ваш запрос от 09 сентября 2024 г. № 12104-03 федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства сообщает о согласии выступить в качестве ведущей организации по диссертации Авдеева Дмитрия Викторовича на тему: «Новый подход к синтезу биологически активных пептидов с дисульфидными связями» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. – биорганическая химия.

Директор

М.Р. Хаитов

В диссертационный совет Д 24.1.092.01 Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н.Д.Зелинского Российской академии наук
119991, Российская Федерация, г. Москва, ленинский пр., д.47

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

предоставившей отзыв на диссертацию Авдеева Дмитрия Викторовича тему: «Новый подход к синтезу биологически активных пептидов с дисульфидными связями» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. – биоорганическая химия.

Полное наименование организации в соответствии с уставом	Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства
Сокращенное наименование организации в соответствии с уставом	ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России
Место нахождения организации	115478, г. Москва, Каширское шоссе, дом 24
Почтовый адрес	115478, г. Москва, Каширское шоссе, дом 24
Телефон	+7 (499) 617-10-27
Адрес электронной почты	info@nrcii.ru
Адрес официального сайта в сети «Интернет»	http://nrcii.ru
Сведения о лице, утвердившем отзыв	Хаитов Муса Рахимович, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор
Сведения о лице, составившем отзыв	Андреев Сергей Михайлович, кандидат химических наук, заведующий лабораторией пептидных иммуногенов
Список основных публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние пять лет	<ol style="list-style-type: none"> 1. Natural human Bet v 1-specific IgG antibodies recognize non-conformational epitopes whereas IgE reacts with conformational epitopes/ Brazhnikov, E. Smolnikov, A. Litovkina, T. Jiang, A. Shatilov, M. Khaitov, U. Wiedermann, R. Valenta, R. Campana //Allergy. – 2023. –Dec; – V.78(12). – P. 3136-3153. 2. Dissection of antibody responses of Gam-COVID-Vac-vaccinated subjects suggests involvement of epitopes outside RBD in SARS-CoV-2 neutralization. [Text] / M. Byazrova, P. Gattinger, E. Astakhova, G. Hofer, M. Khaitov, A. Filatov, R. Valenta // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – V. 24(6): 5104. 3. Transfection efficacy and drug release depends upon the PEG derivative in cationic lipoplexes: Evaluation in 3D in vitro model and in vivo [Text] / A.M. Gileva, O.O. Koloskova, A.S. Nosova,

- L.I. Vishniakova, (...), E.A. Egorenkov, V.V. Smirnov, (...), M.R. Khaitov, E. Markvicheva// Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials.–2023. . T. 111. № 9. C. 1614-1628.
4. Treatment of COVID-19 patients with a SARS-CoV-2-specific siRNA-peptide dendrimer formulation. [Text] / M. Khaitov, A. Nikonova, I. Kofiadi, I. Shilovskiy, V. Smirnov, O. Elisytina, A. Maerle, A. Shatilov, A. Shatilova, S. Andreev, I. Sergeev, D. Trofimov, T. Latysheva, N. Ilyna, A. Martynov, S. Rabdano, E. Ruzanova, N. Savelev, I. Pletiukhina, A. Safi, V. Ratnikov, V. Gorelov, V. Kaschenko, N. Kucherenko, I. Umarova, S. Moskaleva, S. Fabrichnikov, O. Zuev, N. Pavlov, D. Kruchko, I. Berzin, D. Goryachev, V. Merkulov, G. Shipulin, S. Udin, V. Trukhin, R. Valenta, V. Skvortsova //Allergy. – 2023. – т.78. – №6. – с.1639-1653.
 5. Recombinant PreS-fusion protein vaccine for birch pollen and apple allergy [Text] /M. Khaitov, I. Shilovskiy, R. Valenta, M. Weber, A. Korneev, I. Tulaeva, Gattinger P, M. van Hage, G. Hofer, J.R. Konradsen, W. Keller, O. Akinfenwa, A. Poroshina, N. Ilina, E. Fedenko, O. Elisytina, A. Litovkina, E. Smolnikov, A. Nikonova, S. Rybalkin, V. Aldobaev, V. Smirnov, N. Shershakova, O. Petukhova, D. Kudlay, A. Shatilov, A. Timofeeva, R. Campana, S. Udin, V. Skvortsova //Allergy.– 2023.– Oct 19. doi: 10.1111/all.15919.
 6. High Heterogeneity of Virus-Neutralizing and RBD-Binding Activities of COVID-19 Convalescent Sera / E.A. Astakhova, M.G. Byazrova, G.M. Yusubalieva, V.F. Larichev, V.P. Baklaushev, A.V. Filatov // Molecular Biology. – 2022 – V. 56(6). – pp. 1028-1035.
 7. Anti-Ad26 humoral immunity does not compromise SARS-COV-2 neutralizing antibody responses following Gam-COVID-Vac booster vaccination. [Text] / M.G. Byazrova, E.A. Astakhova, A.R. Minnegalieva, M.M. Sukhova, A.A. Mikhailov, A.G. Prilipov, A.A. Gorchakov, A.V. Filatov // Npj Vaccines. – 2022. – V. 7(1). –art № 145.
 8. Functional profiling of in vitro reactivated memory B cells following natural SARS-CoV-2 infection and Gam-COVID-Vac vaccination / E.A. Astakhova, M. G. Byazrova, G. M. Yusubalieva, S.V. Kulemzin, N.A. Kruglova, A.G. Prilipov, V.P. Baklaushev, A.A. Gorchakov, A.V. Taranin, A.V. Filatov // Cells. – 2022. – V. 12(13). 1991.
 9. Silencing of SARS-CoV-2 with modified siRNA-peptide dendrimer formulation/ Musa Khaitov,| Alexandra Nikonova, Igor Shilovskiy, Ksenia Kozhikhova, Ilya Kofiadi et all // Allergy. 2021;76:2840–2854.
 10. Comparative structural study of C-60-lysine and C-60-piperazine biocompatible aqueous solutions [Text] /A.A. Tomchuk, I.S. Voiteshenko, N.N. Shershakova, S.M. Andreev, E.A. Turetskiy, M.R.Khaitov, O.I. Ivankov, T.V. Tropin, O.V. Tomchuk, M.V. Avdeev //Fullerenes nanotubes and carbon nanostructures. –2021. – Oct. – Article; p.1-9.

	<p>11. Identification of a novel splice variant for mouse and human interleukin-5 Shilovskiy, I., Andreev, S., Mazurov, D., Barvinskaia, E., Bolotova, S., Nikolskii, A., Sergeev, I., Maerle, A., Kudlay, D., Khaitov, M. Heliyon (2020), 6 (3), статья № e03586</p> <p>12. Разработка и оценка эффективности ранозаживляющих соединений на основе катионных пептидов и фуллерена. / А.А. Галкина, Д.К. Болякина, А.В. Шатилова, А. А. Шатилов, М. О. Бабикина, А.К. Голомидова, С.М. Андреев, Н.Н. Шершакова, М.Р. Хаитов // Медицина экстремальных ситуаций. - 2023. - №3. – С.56-64</p>
--	---

Ведущая организация подтверждает, что соискатель не является её сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Директор
 ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России,
 д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН



Ученый секретарь
 ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России
 к.м.н.

М.Р. Хаитов

А.А. Власов

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФГБУ «ГНЦ
Институт иммунологии»
ФМБА России,
доктор медицинских наук,
профессор, член-корреспондент
РАН



М.Р. Хаитов

«23» января 2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу 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

Диссертационная работа Авдеева Д.В. посвящена разработке оригинального эффективного подхода к синтезу фармакологически активных пептидов с внутримолекулярными дисульфидными связям с использованием твердофазной технологии. В основу исследования автор включил известные и весьма востребованные лекарства, аналоги пептидных гормонов и рилизинг-факторов: АКТГ, окситоцин, вазопрессин, инсулин, кальцитонин, соматостатин. Круг использования этих препаратов очень широк: сердечно-сосудистые, гинекологические, онкологические, орфанные заболевания, болезни ЖКТ и другие. Химия образования дисульфидной связи в природе хорошо изучена, ее формирование из двух тиолов (-SH) представляет собой двухэлектронную реакцию, требующую окислителя или акцептора электронов. В природе наиболее распространенным механизмом образования дисульфидных связей белка является реакция тиол-дисульфидного обмена, катализируемая тиол-дисульфид-оксидоредуктазами с селективной направленностью. Однако, в случае химического синтеза, в гомогенной

окислительной среде, спонтанное спаривание тиольных групп цистеин-содержащих пептидов обычно сопровождается образованием дисульфидной изоформ с нарушением фармакофорной конформации. Эффективность реакции будет зависеть от того насколько сближена в пространстве реагирующая тиольная пара двух остатков цистеина, что, в основном, определяется фолдингом пептидной молекулы в конкретном окружении. Именно с этой проблемой сталкиваются химики-синтетики, и этот вопрос особенно актуален, если речь идет о крупномасштабном производстве терапевтических дисульфид-содержащих пептидов. Очистка пептида из смеси изоформ крайне сложна, выход резко снижен. Между тем спрос на такие пептиды в последние годы на фармацевтическом рынке значительно вырос, что диктует необходимость существенного прогресса в их синтезе. Новые подходы к синтезу требуют тонкого понимания механизмов взаимодействия дистантных тиольных групп пептидов в присутствии окислителя. Именно этой области исследований посвящена данная диссертационная работа.

Сразу необходимо сказать, что результаты, полученные диссертантом крайне интересны, являются новыми и имеют большое значение для масштабного производства терапевтических пептидов. Необходимо отметить, что окислительная реакция замыкания дисульфидных связей под действием иода используется в химии пептидов довольно давно, однако ее особенности в случае применения в твердофазном варианте практически мало исследовались, а именно этот метод наиболее прогрессивен. В России фундаментальные исследования в этой области были сделаны в лаборатории синтеза пептидов «НМИЦ Кардиологии им академика Е.И. Чазова» МЗ РФ, где проводилось изучение эффективности различных окислителей ($K_3Fe(CN)_6$, O_2 , I_2 , H_2O_2) с использованием тиольных предшественников. Обычно, в большинстве работ формирование внутримолекулярного S-S мостика в пептидах проводят в растворе в условиях очень высокого разбавления, при этом наблюдаются трудности с выделением чистого

продукта. В представленной работе диссертант использовал твердофазный вариант, проведение реакции в фазе полимера позволяло проводить очистку путем простой фильтрации и резко повышало концентрацию пептида по сравнению с растворной формой реакции, практически в 50 раз. Это избавляло от необходимости упаривать десятки литров растворителей, чтобы выделить граммы пептида с неизбежным ухудшением его качества. Проверка эффективности различных окислителей показала, что оптимальным вариантом является иод.

В качестве объектов исследования диссертант выбрал актуальные терапевтические препараты, аналоги природных гормонов окситоцина, вазопрессина и соматостатина: атозибан (антагонист окситоциновых рецепторов, применяемый для предотвращения преждевременных родов), десмопрессин (агонистом второго типа вазопрессиновых рецепторов и применяется, в основном, для лечения несахарного диабета и ночного энуреза) и терлипрессин (агонист вазопрессиновых рецепторов, лечение пациентов с гепаторенальным синдромом, осложнённым циррозом печени), Tm³-окреотэй (радионуклидная диагностика), дезаминоокситоцин. По ходу работы автором было показано, что при твердофазном синтезе замена пиперидина, довольно дорогого растворителя, и к тому же прекурсора, на пирролидин, не снижало эффективности удаления защитной Fmoc-группы, однако последний намного гораздо доступнее и дешевле, что актуально для крупномасштабных синтезов.

Ввиду недостаточной изученности механизма формирования дисульфидной связи под действием иода, диссертант провел очень тщательные экспериментальные исследования этой реакции, используя пептиды с S-третил-защищенным цистеином, анализируя время, избытки иода и выходы продукта. На основе молекулярных моделей переходного состояния реакции и оценки энергии активации Авдеевым Д.В. был предложен молекулярный механизм замыкания. Он показал, что для успешной реакции необходимо сближение атомов серы на расстояние около

4 ангстрем. Очень интересный вывод был сделан отношении влияния на реакцию S-S замыкания N-концевой аминокислотной группы пептида на примере терлипрессина. Ее наличие снижало существенно выход нужного пептида, а ее блокирование (ВОС-группой) давало почти количественный выход (67.73% против 94.70%). Молекулярное моделирование этой реакции показало, что при блокировании меняется геометрия молекулы и энергия преактивации снижается на 10-20 ккал/моль. Этот вывод подтвердился и в случае масштабного синтеза других нейрогипофизарных гормонов и их аналогов. С высокими выходами были синтезированы окситоцин, дезаминоокситоцин, десмопрессин, атозитбан, терлипрессин, Туг³-окреотейт, ДОТА-ТАТЕ на уровне 5-12 г с чистой более 98%, что позволяет говорить о получении таким способом препаратов фармакопейного качества.

Диссертация Авдеева Д.В. написана в традиционном плане и изложена на 143 страницах, где содержится 27 рисунков и 8 таблиц, библиография включает 348 ссылок. Автором представлен литературный обзор объемом 53 страниц. Обзор дает очень детальную информацию о биологически активных пептидах с дисульфидными связями и сам про себе он очень интересен. Приводится информация о пептидах, разрешенных для медицинского использования, первичная структура, их молекулярные мишени, дозы, способы введения. Дан обзор по аналогичным пептидам в организме человека, растениях, насекомых, земноводных, пресмыкающихся, а также роль дисульфидной связи в стабилизации структуры и активности пептидов. Несомненно, обзор заслуживает отдельной публикации.

В целом, обоснованность, достоверность и научная новизна сформулированных в диссертации научных положений, выносимых на защиту, и выводов не вызывают сомнений и замечаний. Диссертация Д.В. Авдеева на соискание ученой степени кандидата химических наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится законченное решение научной задачи, связанной с разработкой нового

подхода к синтезу биологически активных пептидов с дисульфидными связями.

Выводы настоящей диссертации основаны на достоверных экспериментальных данных, обобщениях собственного материала и данных, имеющихся в литературе. Автореферат диссертации и опубликованные Авдеевым Д. В. статьи и тезисы докладов на международных и всероссийских конференциях отражают основное содержание работы. Материалы диссертации отражены в 3 статьях в рецензируемых изданиях, индексируемых базами данных WOS/ и Scopus. Автореферат диссертации и опубликованные работы отражают основное содержание работы. Представленная диссертационная работа отвечает всем требованиям ВАК РФ и Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (ред. от 11.09.2021) "О порядке присуждения ученых степеней" (вместе с "Положением о присуждении ученых степеней"), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Авдеев Дмитрий Викторович, заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. – Биоорганическая химия.

Отзыв составил:

кандидат химических наук, заведующий лабораторией пептидных иммуногенов ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России

Сергей Михайлович Андреев _____

