



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ТИХООКЕАНСКИЙ ИНСТИТУТ БИОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. Г.Б. ЕЛЯКОВА
Дальневосточного отделения Российской академии наук
(ТИБОХ ДВО РАН)

690022, г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159;
Тел.: 7(423) 231-14-30; факс: 7(423) 231-40-50, электронная почта: office@piboc.dvo.ru, www.piboc.dvo.ru
ОКПО 02698170, ОГРН 1022502129540, ИНН 2539001223, КПП 253901001

№ 16/146-47 от 15.03.2022
На № 4.10-48-110 от 08.02.2022 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Тихоокеанский
институт биорганической химии им.
Г.Б. Елякова Дальневосточного
отделения Российской академии наук



к.х.н.  Дмитренко П.С.

15 марта 2022 года

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию **Алферовой Веры Александровны** «Структура и антибиотическая активность циклических липопептидов и поликетидов, продуцируемых стрептомицетами», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности: 1.4.9 – биорганическая химия.

Актуальность избранной темы

Диссертационная работа Алферовой В.А. представляет собой очень интересный пример комплексной работы в области биорганической химии. Актуальность темы диссертации вопросов не вызывает. Возникновение антибиотик-устойчивых штаммов патогенных штаммов микроорганизмов является одной из главных проблем современной медицины. Постоянно увеличивающийся объем использования антибиотиков в медицине и сельском хозяйстве приводят к увеличению темпов выработки устойчивости к антимикробным препаратам и появлению штаммов резистентных к широкому спектру антибиотических препаратов. Таким образом, изучение антимикробных соединений, которые могут стать основой для создания новых коммерческих антибиотиков, является стратегически важной и чрезвычайно актуальной задачей.

Цели и задачи исследования

Цель данной диссертационной работы – установление структуры и изучение антибиотической активности вторичных метаболитов, продуцируемых стрептомицетами. Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

1. Определение состава антибиотических вторичных микробных метаболитов оригинальных штаммов-продуцентов *Streptomyces griseorubens* INA 00887, *Streptomyces hygrosopicus* ВКПМ Ac2079, *Streptomyces* sp. ИНА-Ас-5812 ВКПМ Ac1980.

2. Выделение биологически активных вторичных метаболитов в количествах, достаточных для физико-химической и биологической характеристики антибиотиков.

3. Установление структуры вторичных метаболитов с помощью различных физико-химических методов анализа, а также биоинформатического анализа путей биосинтеза этих соединений.

4. Накопление данных о биологических свойствах вторичных микробных метаболитов, выявление закономерностей связи химического строения с активностью в изучаемых структурных семействах антибиотиков.

Научная новизна

В результате выполнения данной работы выделен ряд микробных вторичных метаболитов различной степени новизны. Установлена структура соединений, идентичных или близкородственным описанным ранее антибиотикам (кристалломицин, астолиды, ирумамицин, изоирумамицин), для них выявлены новые закономерности связи структуры и активности. Получены новые пептидные антибиотики, названные гауземицинами, установлена их структура, позволяющая отнести их новому классу пептидных антибиотиков. Показано, что гауземицины обладают оригинальным, отличающимся от родственных пептидных антибиотиков механизмом действия.

Теоретическая и практическая значимость

Проведенная в рамках данного исследования характеристики химических, физико-химических, спектральных и биологических свойств новых вторичных метаболитов стрептомицетов вносит важный вклад в фундаментальные исследования низкомолекулярных биологически активных соединений. Кроме того, очевидной ценностью этой работы является высокий потенциал использования ее результатов (например, данных по связи структуры и активности в исследованных семействах антибиотиков) для получения новых перспективных полусинтетических и синтетических соединений, перспективных для лечения инфекционных заболеваний. Практическая значимость дополнительно подтверждается наличием двух патентов по теме диссертации.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа Алферовой В.А. представляет собой заверченный цикл исследований и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы. Основная часть работы изложена на 178 страницах, включает 82 рисунка и 19 таблиц. Кроме того, приведены 25 приложений на 40 страницах. Список цитируемой литературы включает 327 наименований.

Во введении автор обосновывает актуальность и новизну выбранной темы, обозначает практическую значимость данной работы, а также формулирует цель и задачи исследования.

Литературный обзор посвящен обобщению современных данных о семействах природных соединений, выделенных в рамках работы – анионным макроциклическим липопептидным антибиотикам и макролидным антибиотикам. Обзор состоит из трех разделов и включает не только описание структур вышеупомянутых соединений, но также затрагивает биологические свойства и механизмы действия этих антибиотиков. Кроме того, уделено внимание описанию изучения биосинтеза соединений каждого семейства. Стоит отметить, что обзор литературы написан грамотно и квалифицированно, читается с интересом.

Следующая глава диссертации посвящена обсуждению собственных результатов и является логическим продолжением обзора литературы. Она состоит из четырех разделов, посвященных изучению четырех антибиотических комплексов, выделенных из четырех различных штаммов *Streptomyces* spp. Для всех соединений подробно описывается процесс выделения и очистки. Особое внимание уделено установлению структуры и стереохимических особенностей выделенных антибиотиков. Для ирумамицинов и гауземицинов детально описан процесс изучения биосинтеза с применением молекулярно-генетических методов. Материал, изложенный в этой главе, полностью отражает весь ход проделанной работы и выводы по диссертации.

Экспериментальная часть содержит подробное описание всех способов выделения и синтеза, а также спектральных характеристик соединений, использованных для доказательства структуры. Применение и умелое использование современных и традиционных методов выделения, идентификации и анализа (^1H , ^{13}C и ^{15}N ЯМР спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения, ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-МС и др.) обеспечивает высокую степень достоверности полученных данных и сделанных на их основе выводов. Установленная стереохимия соединений не вызывает сомнений.

Выводы, изложенные автором, обоснованы, соответствуют результатам исследования, поставленной цели и задачам, вынесенным на защиту, полученные результаты не вызывают сомнения.

Материалы, приведенные автором в приложениях, позволяют более подробно ознакомиться со спектральными данными выделенных соединений, а также сравнить их с литературными.

Резюмируя, можно сказать, что диссертация Алферовой В.А. выполнена на очень высоком методическом уровне.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации. Основные научные результаты диссертационной работы адекватно отражены в публикациях автора по теме работы, в том числе в семи научных статьях, опубликованных в уважаемых отечественных и зарубежных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, а также в 12 тезисах всероссийских и международных конференций.

Вопросы и замечания:

В списке сокращений не все расшифровки сокращений переведены на русский язык. Так же как в списке сокращений, так и по тексту диссертации употребляются англоязычные термины при наличии широко распространенных русскоязычных аналогов (NOE, IC₅₀, мультиплетности сигналов ^1H ЯМР и др.). Кроме того, некорректно называть эксперимент COSY гомоядерным, так как существуют и гетероядерные его варианты.

В рисунке 2 используется неудачный выбор цветов – некоторые части схемы имеют до смешения близкие цвета. В рисунке 30 используется слишком мелкий шрифт, что затрудняет его восприятие.

Не принято сокращать родовое название без использования полного варианта на этой же странице

Нет необходимости постоянно упоминать о двумерности спектров COSY, HSQC и TOCSY, так как эти методики обычно (и в данной работе, в частности) используются только в двумерном варианте. Кроме того, явно избыточной являются конструкции: «2D ^1H , ^1H NOESY спектр», «2D ^1H , ^1H ROESY спектр» и « ^1H TOCSY спектр»

При приведении двумерных спектров ЯМР желательно приводить и проекции соответствующих одномерных спектров.

Не совсем понятно какой смысл вкладывает автор в фразу (с. 65): «Разрешенный по мультиплетности ^{13}C -HSQC спектр позволил различить сигналы групп СН и СН₂». Создается впечатление, что здесь использован некий особый вид спектра HSQC, который в отличие от обычного позволил различить сигналы.

Используется нестандартное обозначение «Н^N» вместо обычного «HN». При этом для протонов, связанных с углеродом, используется привычное обозначение «НС». Также не понятно обозначение HN⁷ (с. 68)

С. 78 Очень странный термин «константа связи» вместо традиционных вариантов: константа спин-спинового взаимодействия, KCCB, константа взаимодействия.

С. 79 некорректно, говоря только о протонах, называть Н_{M36} и Н_{M38} метилами.

С. 80. Более современные методы, используемые для исследования деппелидов (химическая деградация и дериватизация, ECOSY и J-разрешенный HMBC) позволяют предположить... Остается не понятным использовались ли эти современные методы автором, так как подробное описание отсутствует. Если не использовались, тогда каким образом эти методы позволяют предположить?

На основании чего сделано заключение о *цис* конфигурации двойной связи в жирнокислотном остатке в соединении 2? По какой причине не приводятся мультиплетности сигналов протонов в таблице 6?

Почему спиновые системы M2–M8, M9–M15, а также M18–M29, M30–M43 в астолидах А и В названы изолированными? Неочевидно отсутствие COSY корреляции между протонами метиленовых групп Н₂-8 /Н₂-9 и Н₂-29 /Н₂-30. Почему для соединения кажущихся изолированных систем не использовали обычный ^1H - ^{13}C HMBC, хотя в таблице соответствующие корреляции приведены?

Допущена некоторая небрежность в описании биологической активности. Так остается неясным какой тип активной концентрации (МИК, ИК₅₀) для антифунгальной активности показан в таблице 8? Если МИК, как упоминается и в тексте перед таблицей, то не совсем понятна логика употребления различных единиц измерения для МИК (мкг/мл в тексте, мкМ в таблице).

Расшифровку кодов линии клеток (таблица 9) следует указывать более конкретно: эритролейкемия человека, колоректальная карцинома человека, легочные фибробласты человека). Кроме того, не удалось найти ссылку на таблицу 9 в тексте. Более того, данные этой таблицы никак в тексте не обсуждаются.

Кроме того, следовало бы объяснить прочерки в отдельных ячейках таблицы 9, а также пустые ячейки в таблице 3 (остается лишь гадать что это означает – отсутствие активности или отсутствие данных об активности).

Не указаны места (и источники) выделения штаммов-продуцентов. Единственное указание, приведенное для продуцента астолидов А и В (почва Саратовской области) является слишком не определенным.

Результаты работы с астолидами А и В, проводившейся до автора диссертации, не были опубликованы? Если такие публикации есть, то следовало бы указать соответствующие ссылки.

С. 94. «...в молекуле ирумамицина и его аналогов содержится *цис*-двойная связь в положении С4-С5...» При этом в приведенных структурах ирумамицина двойной связи в этом положении нет.

Также в работе допущены ряд стилистических ошибок и опечаток

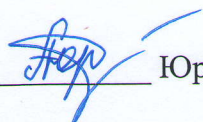
Сделанные замечания не затрагивают сущности работы, достоверности полученных результатов, обоснованности выводов и не умаляют теоретической и практической значимости диссертационной работы.

Заключение.

Таким образом, диссертация Веры Александровны Алферовой «Структура и антибиотическая активность циклических липопептидов и поликетидов, продуцируемых стрептомицетами» представляет собой законченную научно-квалификационную работу и соответствует всем требованиям «Положения о присуждения 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), 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.

Отзыв на диссертационную работу Алферовой В.А. рассмотрен и утвержден на семинаре лаборатории химии микробных метаболитов ТИБОХ ДВО РАН (протокол №2 от 10.03.2022)

Кандидат химических наук,
и.о. заведующего лабораторией химии
микробных метаболитов


Юрченко Антон Николаевич

Кандидат химических наук,
м.н.с.


Журавлева Олеся Игоревна

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук

Почтовый адрес: 690022, г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159

Рабочий телефон: +7(423)2311168

e-mail:yurchant@ya.ru

Подписи Юрченко А.Н. и Журавлевой О.И. удостоверяю,
Ученый секретарь ТИБОХ ДВО РАН
к.б.н. Куриленко В.В.



