

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Дубовского Петра Викторовича
«Мембраноактивные полипептидные токсины: взаимосвязь структура-функция»,
представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по
специальности 1.4.9 Биоорганическая химия

Работа Дубовского Петра Викторовича посвящена поиску новых физиологически-активных соединений на основе биоактивных пептидов, обладающих антимикробной, антигрибковой, цитотоксической и антивирусной активностями. Более конкретно, в качестве объектов исследования были выбраны мембраноактивные токсины (МАТ) из яда пауков и змей. Преимущество данного выбора и актуальность поставленной цели обусловлена следующими особенностями МАТ:

1. Прямое разрушение мембраны бактерий, что принципиально отличается от механизма действия классических антибиотиков.
2. Широкий спектр и многофункциональность. Быстрый механизм действия. Низкая склонность к развитию резистентности у бактерий.
3. МАТ могут действовать синергетически с классическими антибиотиками, повышая их эффективность.

Актуальность работы обусловлена также тем, что традиционная химиотерапия и применение антибиотиков часто вызывают побочные эффекты, включая токсичность для здоровых тканей, развитие лекарственной устойчивости и подавление иммунного ответа. Однако для рационального конструирования новых соединений с заданной активностью на основе МАТ требуется понимание механизмов их взаимодействия с липидными мембранами различного состава.

Диссертационная работа состоит из введения, трёх глав, посвящённых соответственно обзору литературы, описанию методов проведения экспериментов, описанию результатов и их обсуждению, выводов и списка литературы. Полный объём диссертации составляет 367 страниц с 109 рисунками и 47 таблицами. Список литературы содержит 595 наименований. Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 32 статьях и обзорах в ведущих российских и международных журналах. Текст диссертации написан хорошим, понятным неспециалисту языком и прекрасно проиллюстрирован.

Первая глава — это литературный обзор по тематике диссертационной работы. В ней рассмотрены структуры мембраноактивных токсинов из яда пауков и змей, показаны их ключевые достоинства и недостатки, и описаны основные подходы к дизайну новых биоактивных пептидов. Материалы этой главы свидетельствуют о хорошем знании автором литературы по рассматриваемым проблемам.

Вторая глава посвящена описанию и обсуждению полученных результатов и состоит из четырёх разделов. В первом разделе описано изучение структуры кардиотоксинов в водном растворе. Отмечу, что определение пространственной структуры кардиотоксинов в водном растворе не является рутинной задачей для метода ЯМР, поскольку, из-за подвижности молекулы, в растворе могут присутствовать несколько форм, между которыми наблюдается медленный (во временной шкале ЯМР) конформационный обмен. Во втором разделе описывается исследование взаимодействия кардиотоксинов с липидными мембранами. Исследованию взаимосвязи мембранной и биологической

активность кардиотоксинов посвящен третий раздел. И наконец, четвертый раздел посвящен изучению структуры различных линейных пептидов в водном растворе и модельном мембранном окружении.

Третья глава посвящена экспериментальным методам. Описаны использованные в работе материалы и оборудование и приведены методики проведения экспериментов и расчетов. Основными методами, используемыми в работе, являются спектроскопия ЯМР и молекулярная динамика. Автор прекрасно продемонстрировал, как эти два метода взаимно дополняют друг друга при решении структурных задач.

В целом представленная диссертация является значимым фундаментальным научным исследованием, выполненным с использованием современных экспериментальных методов, и внесшим весомый вклад в химию мембрано-активных пептидов. Полученные автором экспериментальные данные и выводы не вызывают сомнения в их достоверности. Диссертационная работа соответствует специальности – 1.4.9 Биоорганическая химия. Из наиболее важных и интересных результатов можно выделить следующие: (1) Показано, что в отличие от рентгеноструктурного анализа, метод ЯМР позволяет обнаруживать и исследовать минорные конформации кардиотоксинов. В частности установлено, что для рекомбинантного цитотоксина *N. oxiana* (rCTX1) медленное равновесие между конформациями происходит из-за цис-транс-изомерии пептидной связи Val7-Pro8 в петле I. (2) Автором продемонстрированы уникальные возможности совместного применения методов ЯМР и молекулярной динамики для изучения структуры сложных пептидов и их взаимодействия с липидными мембранами. (3) Получена новая фундаментальная информация о взаимосвязи мембранной и биологической активности кардиотоксинов из яда кобр. Предложена новая классификация кардиотоксинов на основании их мембранной активности. (4) Полученная фундаментальная информация использована для дизайна новых антимикробных пептидов, обладающих заданным антимикробным действием. Этому вопросу посвящён заключительный раздел диссертационной работы, носящий, в основном, практический характер. В данной части работы, помимо экспериментальных методов, использовались обучаемые нейросети, а также различные программы для предсказания активности пептидов. Практический результат работы – идентификация мотива селективности линейных мембраноактивных пептидов. Для фосфатидилглицерина этот мотив определяется гидрофобным якорем, сформированным 3-мя аминокислотными остатками на N-конце молекулы: двух остатков фенилаланина и одного триптофана. Способность линейных мембраноактивных пептидов и их фрагментов формировать стабильные комплексы пептид/фосфолипид необходимо учитывать при разработке на их основе цитотоксических и антиинфекционных препаратов.

Материалы диссертационной работы апробированы на престижных всероссийских и международных конференциях и опубликованы в 32 статьях в журналах, рекомендованных ВАК, в том числе в 7 обзорах. Достоверность результатов, новизна и высокий научный уровень проделанной работы не вызывает сомнений. Автореферат полностью отражает содержание диссертации и соответствует содержанию опубликованных статей. Считаю, что представленная работа полностью соответствует требованиям ВАК предъявляемым к докторским диссертациям.

Замечания:

- 1) Раздел 2.2.1.1. КТ Р-типа в мембране: почему для исследования взаимодействия токсинов с модельной мембраной были выбраны маленькие мицеллы - их

гидродинамический радиус, $28\text{\AA}$, сравним с размером токсина, $30\text{\AA}$? Трудно представить, что «зона контакта мицеллы с молекулой токсина является вогнутой сферой с радиусом $\sim 70\text{\AA}$ ».

- 2) То же касается и использования спиновых меток для определения локализации токсина в мицелле. Для мицелл характерен быстрый обмен мономерами (включая спин-меченную жирную кислоту) между мицеллой и раствором. Это не позволяет достоверно определить локализацию молекулы токсина внутри или на поверхности мицеллы.
- 3) На рисунке 22 автореферата и рисунках 102, 103, 105 диссертации вкралась ошибка. Вместо отношения липид/пептид, $L/P = 0, 50, 10$, надо писать $P/L = 0, 1/50, 1/10$, ибо откуда возьмётся сигнал ЯМР фосфора при концентрации липида равной нулю ($L/P = 0$).

Указанные замечания, однако, никоим образом не искажают существа представленной диссертационной работы, которая по своей цели, научной новизне, практической значимости, а также представленным публикациям полностью отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 №842, а ее автор, Дубовский Петр Викторович, безусловно, заслуживает присуждения ему ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 Биоорганическая химия.

Официальный оппонент:

Доктор химических наук,

Заведующий лабораторией магнитных явлений

ФГБУН Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения РАН

Поляков Николай Эдуардович

Адрес: Новосибирск, 630090, Ул. Институтская, 3;

Тел. +7 (383) 3332947

e-mail: polyakov@kinetics.nsc.ru

Докторская диссертация защищена по специальности 01.04.17 - химическая физика.

15.09.2026

Подпись Полякова Н. Э. заверяю:

Ученый секретарь ИХКГ СО РАН, к. ф.-м. н. / Пыряева А. П./



«5» сентября 2026 г.