

**Отзыв официального оппонента на диссертацию Омельчук Ольги Александровны
«ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ МАКРОЛИДНОГО АНТИБИОТИКА
ОЛИГОМИЦИНА А И ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ СТРУКТУРА-АКТИВНОСТЬ»,
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по
специальности 02.00.03 - Органическая химия**

Диссертационная работа Омельчук О.А. посвящена разработке новых направлений химической модификации и получению новых производных макролидного антибиотика олигомицина А, а также изучению связи структура–активность в ряду полученных аналогов.

Олигомицин А является макролидным антибиотиком – высокоактивным ингибитором F_0F_1 АТФ-синтазы, который проявляет противогрибковую и антипролиферативную активность. Олигомицин обладает высокой селективностью по отношению к опухолевым клеткам, способен подавлять жизнедеятельность малопротелизирующих и подобных стволовым злокачественных клеток, а также преодолевает несколько типов механизмов лекарственной устойчивости. Однако практическое применение этого антибиотика ограничено его высокой токсичностью в отношении клеток млекопитающих и высокой гидрофобностью, что препятствует его растворимости в водных средах. Для оптимизации физико-химических и фармакологических свойств природных антибиотиков успешно применяется метод химической модификации. Таким образом, исследования в области получения и изучения связи структура–активность в ряду новых аналогов олигомициновых антибиотиков, несомненно, являются **актуальными**, расширяют фундаментальные знания о сайтах молекулы, ответственных за биологическую активность, результаты этих исследований носят как теоретический, так и прикладной характер, и способствуют созданию противогрибковых и антипролиферативных средств нового поколения.

Диссертация Омельчук О.А. построена классическим образом и включает введение, обзор литературы, обсуждение результатов, экспериментальную часть и выводы. Объем диссертационной работы составляет 170 страниц. В работе содержатся 44 схемы, 24 рисунка и 14 таблиц.

Описанию экспериментальной работы и её результатов предшествует интересный обзор литературы, посвященный макролидным антибиотикам, механизм действия которых связан с ингибированием АТФ-синтазы. В первых трех главах описано выделение и установление строения природных макролидов семейства олигомицинов, маклафунгинов,

вентурицидинов, оссамицина, дунаймицинов и ушекулидов, цитоварицинов, апоптолидинов и манделаидов. Четвертая глава посвящена подробному описанию механизма действия олигомицина А и его биологической активности. Пятая глава непосредственно связана с тематикой экспериментальной работы и дает представление о существующем научном заделе по химической модификации макроциклов-ингибиторов АТФ-синтазы — олигомицина А и родственных ему макролидов. Обзор написан хорошим языком, наглядно проиллюстрирован, охватывает более 150 литературных источников со времени открытия олигомицинов в 1954 г. до наших дней и логично подводит читателя к непосредственным задачам данного экспериментального исследования. В заключительной главе обзора суммированы научные проблемы, определяющие **обоснованность** выдвинутых автором положений, выносимых на защиту.

Перед диссертантом стояла задача осуществить направленные превращения отдельных функциональных групп антибиотика с минимальным количеством стадий и с минимальным использованием защитных группировок. Следует отметить, что успех работы не был очевиден ввиду сложности и лабильности объекта модификации: в молекуле олигомицина А присутствуют пять гидроксильных групп, три двойные связи, два карбонила и лактонная группировка; кроме того, молекула олигомицина А чувствительна к воздействию высоких температур, неустойчива в кислой и щелочной средах. В структуре антибиотика 17 асимметрических центров, а при модификации могут возникать дополнительные центры, при этом известно, что активность отдельных изомеров может значительно различаться. Таким образом, селективная химическая модификация олигомицина А является достаточно сложной синтетической задачей.

В соответствии с целью работы и поставленными задачами обсуждение результатов состоит из семи глав. В первой главе описаны методы восстановления двойных С-С связей и карбонильных групп олигомицина А, во второй — окисления двойной С-С связи. Третья глава посвящена реакциям [4+2] циклоприсоединения, в которых олигомицин А выступает в роли диена, а бензохинон и бензилмалеимиды — в роли диенофилов. Четвертая и пятая главы посвящены модификациям гидроксильных групп антибиотика в 33 и 9 положениях. В шестой главе представлены данные о биологической активности полусинтетических производных олигомицина в сравнении с природным антибиотиком, на основании которых проведен анализ структура-активность и выделено наиболее перспективное направление дальнейшей модификации олигомицина А. Седьмая, заключительная, глава суммирует полученные в работе результаты.

Диссертант успешно справился с поставленными задачами. В работе получено с хорошими выходами и охарактеризовано 16 новых аналогов олигомицина А. Все описанные способы модификации олигомицина включали не более двух стадий, которые проводились с использованием коммерчески доступных реагентов и растворителей, что обуславливает их эффективность и практичность. Автору удалось исследовать практически все возможные сайты молекулы, по которым возможна модификация, реализовать регио- и стереоселективное восстановление кратных С-С-связей и карбонильных групп олигомицина А, впервые провести эпексидирование одной С16-С17 кратной связи с раскрытием эпексидного цикла под действием муравьиной кислоты, осуществить [4+2]циклоприсоединение к диеновой системе, а также селективную модификацию гидроксильных групп в положениях С9 и С33.

Отдельно хотелось бы отметить, что автор уделил особое внимание доказательству структур полученных соединений, что в случае аналогов олигомицина также является нетривиальной задачей. Для этого были привлечены методы масс-спектрометрии, ИК-, УФ- и ЯМР-спектроскопии, а также в тех случаях, где это было необходимо, методы молекулярно-динамического моделирования и квантово-химических расчетов. Основными методами доказательства структур соединений являются различные методы ЯМР: ^1H , ^{13}C , методы корреляционной, одноядерной и гетероядерной, спектроскопии (COSY, ROESY, HSQC, HMBC). Автор удачно представил результаты анализа этих спектров в виде таблиц к каждому полученному соединению, в которых выделены измененные или новые сигналы (таблицы 2.1 – 2.11), а также рисунков, на которых наглядно отражены корреляции, наблюдаемые в спектрах (рис. 2.2, 2.3, 2.5, 2.8). Таким образом, автору удалось доказать не только строение всех полученных соединений, но и положения, по которым прошла модификация, и конфигурацию асимметрических центров.

Завершающим этапом диссертационной работы явилось изучение противогрибковой и антипролиферативной активности полученных производных олигомицина А (результаты представлены в таблицах 2.12 - 2.14). Для ряда аналогов выявлена высокая и селективная активность в отношении штаммов дрожжевых грибов при одновременном снижении их цитотоксичности. Аналоги, модифицированные по С9 и С33 гидроксильным группам оказались менее токсичны, чем исходный антибиотик, в отношении нормальных клеток человека при сохранении активности в отношении опухолевых линий клеток. Полученные производные олигомицина А представляют интерес для дальнейшего углубленного исследования их биологических и фармакологических свойств.

В экспериментальной части диссертации представлены сведения об использованных в работе реагентах, растворителях и оборудовании, об условиях проведения физико-химических анализов; для каждого полусинтетического производного олигомицина приведены подробные методики синтеза и необходимые физико-химические и спектральные характеристики. Экспериментальная часть работы является несомненной заслугой автора, выполнена на исключительно высоком профессиональном уровне с использованием современных методов органического синтеза и идентификации органических соединений. Следует отметить, что автору удалось на сравнительно небольших количествах (от 30 до 60 мг исходного антибиотика) провести реакции модификации, выделить и очистить (до чистоты 93-98% по ВЭЖХ) производные и их изомеры, которые получались в большинстве исследованных реакций, с хорошими выходами. **Достоверность** полученных автором результатов не вызывает сомнений.

Выводы обоснованы, соответствуют названию, цели и содержанию работы, суммируют разработанные способы модификации олигомицина А и найденные структурно-функциональные закономерности в ряду полученных аналогов.

Замечания

1. Работа написана грамотным и понятным языком, легко читается, практически не содержит опечаток, однако есть некоторые не совсем удачно сформулированные фразы (стр. 31, 1-3 строчки; стр. 33, 5-9 строчки; стр. 122: в заключительной фразе говорится о «геометрических» изомерах, образование которых в этой части ранее не обсуждалось; стр. 125, первая фраза: по-видимому, пропущено слово «ангидридами»), небольшие неточности в терминологии (стр. 41: употреблен термин «оксидативный» вместо «окислительный»; стр. 77: «метильный» и «бензойный» эфиры вместо «метиловый» и «эфир бензойной кислоты») и отдельные недостаточно информативные подписи к рисункам. Так, в подписях к рисункам 2.4 (стр. 104) и 2.7 (стр. 113) желательно было бы отразить, что изображенные трехмерные структуры при возможных конформациях С16-С19 диеновых связей (рис. 2.4) и переходных состояний при циклоприсоединении (рис. 2.7) являются результатом молекулярного моделирования. Было бы также удобнее для читателя, если бы рисунок 3.1, представляющий нумерацию атомов в молекуле олигомицина А, был расположен в начале Обсуждения результатов перед таблицами с расшифровкой данных ЯМР-спектров, где эта нумерация используется.
2. Как уже отмечалось, обзор литературы посвящен макролидным антибиотикам, механизм действия которых связан с ингибированием АТФ-синтазы, логично построен и хорошо и подробно написан, однако в работе отсутствует его название. При

обсуждении взаимодействия олигомицина А с АТФ-синтазой (глава 1.4, стр. 31 и сл.), было бы более наглядно, если бы эти взаимодействия были приведены на рисунке, отражающем трехмерную структуру комплекса.

3. Вызывает сожаление, что в экспериментальной части не описаны производные малеимида, полученные автором, которые применялись в реакциях [4+2]циклоприсоединения (глава 2.3, стр. 105-106).
4. Обсуждение данных молекулярного моделирования (стр. 112), которое проводилось для соединений **8**, **12a**, **12b** и **14a**, было бы более информативно, если бы присутствовала таблица значений торсионных углов и расстояний между пространственно сближенными атомами по данным ЯМР и молекулярного моделирования.
5. Хотелось бы отметить искусное селективное ацилирование гидроксильной группы в положении 9 олигомицина А при введении аминокислотных остатков с целью получения возможно более растворимых в водных средах производных (глава 2.5, стр. 128 и сл.) и пожелать автору в будущем объяснить механизм такого селективного введения при одновременном применении с этой целью сукцинимидного эфира защищенного по аминогруппе глицина и конденсирующего агента РубОР в присутствии диазабициклоундецена.

Отмеченные недочеты и пожелания не носят принципиального характера. Работа Омельчук О.А. является завершенным исследованием, выполнена на высоком экспериментальном и теоретическом уровне. Диссертант проявил себя как высококвалифицированный экспериментатор, освоил различные методы синтетической органической химии, а также биохимические и микробиологические методы. **Научная новизна и практическая значимость** работы очевидны. Автором работы предложен ряд новых способов химической модификации олигомицина А, затрагивающих практически все реакционно-способные структурные элементы молекулы, что позволяет оценить вклад этих элементов в активность полученных соединений и установить закономерности связи структура—активность. Полученные полусинтетические олигомицины со сниженной токсичностью и высокой активностью *in vitro* представляют **практическую значимость** в рамках поиска новых антибиотиков с ценной терапевтической активностью.

Заключение

Диссертационная работа Омельчук Ольги Александровны представляет собой цельное научное исследование по ранее практически не исследованной теме — химической модификации олигомицина А, высокоактивного ингибитора АТФ-синтазы и основного представителя семейства олигомицинов. Материалы диссертации опубликованы в 4-

х статьях в журнале Макрогетероциклы, статье в журнале Journal of Antibiotics, статье в журнале Natural Product Research и доложены на отечественных и зарубежных конференциях, тезисы 4-х докладов опубликованы в рецензируемых изданиях (FEBS, FEBS OpenBio, Российский биотерапевтический журнал). По результатам работы получен патент РФ. Печатные работы и автореферат в полной мере отражают содержание диссертации.

Диссертационная работа Омельчук О.А. «Химическая модификация макролидного антибиотика олигомицина А и изучение связи структура-активность» по поставленным задачам, уровню их решения, объему материала, актуальности, научной новизне и достоверности результатов соответствует всем требованиям п. 2 «Положения о порядке присуждения учёных степеней в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»» (утвержденном Приказом ректора РХТУ им. Д.И. Менделеева № 82ОД от 14.11.2019), а ее автор – Омельчук Ольга Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия.

Старший научный сотрудник
лаборатории химии белка
кафедры химии природных соединений
Химического факультета
Московского государственного
университета имени М.В. Ломоносова
к.х.н., доцент

«19» мая 2021 г.

Сумбатян Н.В.

Специальность, по которой официальным
оппонентом защищена диссертация:
02.00.10 – «биоорганическая химия».

Контактные данные:
Тел.: (495)939-55-20
E-mail: sumbtyan@belozersky.msu.ru

Адрес официального места работы:
119991, Москва, Ленинские горы, дом 1,
строение 3, ГСП-1, МГУ, Химический факультет.

Декан Химического факультета
Московского государственного
университета имени М.В. Ломоносова
чл.-корр. РАН, д.х.н.

Калмыков С.Н.