

**Отзыв
официального оппонента на диссертацию
Омельчук Ольги Александровны
на тему “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**

Актуальность темы исследования

Важнейшая проблема современного здравоохранения – развитие множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) как в опухолевых клетках, так и у патогенных микроорганизмов к существующим лекарственным препаратам, стимулирует разработку новых средств для лечения инфекционных и онкологических заболеваний. Синтез новых соединений с ценной терапевтической активностью в рамках начального этапа создания новых лекарственных препаратов является одной из важнейших задач современной органической и медицинской химии. Накопленный к настоящему времени мировой опыт показывает, что наиболее плодотворным подходом поиска соединений-кандидатов для разработки лекарственных препаратов, является направленный синтез соединений, в основе которых лежит структура природного биоактивного вещества. Строение природных биологически активных веществ веками подвергалось эволюционному отбору, поэтому они по праву считаются «привилегированными» структурами для разработки лекарственных препаратов на их основе. Химическая модификация природных антибиотиков со сложной структурой является основным методом коррекции их биологических свойств. Небольшие изменения структуры антибиотика могут приводить к заметному изменению его свойств – расширению спектра действия, снижению токсичности, увеличению растворимости и др. Например, полусинтетические производные эритромицина и авермектина – азитромицин и ивермектин, соответственно, превосходили природные антибиотики по многим фармакологическим параметрам, благодаря чему нашли широкое применение в клинической практике и ветеринарии.

Ценные биологические свойства макролидного антибиотика олигомицина А (высокая противогрибковая активность и селективная антитрополиферативная активность в отношении отдельных типов опухолевых клеток, а также возможность преодоления нескольких механизмов лекарственной устойчивости) обуславливают целесообразность поиска его полусинтетических производных с улучшенными фармакологическими свойствами. Поэтому, работа Омельчук О.А., посвящённая химической модификации олигомицина А и изучению связи структура-активность, выполнена в актуальной области органической и медицинской химии.

Общая структура и апробация работы

Диссертационная работа Омельчук О.А. изложена на 170 страницах, содержит 14 таблиц, 24 рисунка, 44 схемы. Список литературы включает 168 наименований. Результаты работы опубликованы в 6 экспериментальных статьях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) в журналах Макрогетероциклы (Macroheterocycles), The Journal of Antibiotics, Natural Product Research. Работа прошла успешную апробацию на российских и международных конференциях и симпозиумах.

Обзор литературы

Приведенный в работе О.А. Омельчук обзор литературы (75 страниц, 152 источника литературы) систематизирует всю известную к настоящему времени информацию о макролидных антибиотиках – ингибиторах АТФ-синтазы. В первых трех разделах обзора описаны структуры всех известных к настоящему времени природных макролидных антибиотиков, механизм действия которых связан с ингибированием АТФ-

синтазы, указаны их природные источники (микроорганизмы-продуценты), а также проведен сравнительный анализ отличий в их структурах. В четвертом разделе подробно описан механизм действия олигомицина А, основанный на ингибировании работы АТФ-синтазы, а также выделены фрагменты его структуры, играющие наиболее важную роль в связывании антибиотика с мишенью. В этом разделе также развернуто представлены все известные аспекты биологического действия олигомицина А, касающиеся в основном его противоопухолевой активности. Обзор показывает, что олигомицин А является высокоактивным противоопухолевым агентом, особенно в отношении малопролиферирующих клеток, располагающихся в центре опухоли, и в отношении стволовых опухолевых клеток, трудноподдающихся химиотерапии таргетными препаратами, направленно подавляющих процесс пролиферации. Кроме того, этот антибиотик также эффективен в комбинации с существующими противоопухолевыми и антимикробными лекарственными препаратами за счет подавления нескольких механизмов МЛУ. В пятом разделе приведены сведения о всех известных к настоящему времени примерах химической модификации как олигомицина А, так и других родственных антибиотиков – апоптолидина и манделаидов. Показано, что химическая модификация природных макролидных антибиотиков-ингибиторов АТФ синтазы является самым доступным и целесообразным способом получения их новых производных, так как микробиологических примеров получения соответствующих антибиотиков практически не описано, а полный синтез является сложнейшим процессом, состоящим из нескольких десятков стадий с суммарным выходом менее 1%. С момента открытия олигомицинов в 1956 году и до настоящего времени было описано всего 19 полусинтетических производных олигомицина А и 12 ацильных производных олигомицина В, и улучшения химиотерапевтических свойств у этих производных в сравнении с исходным антибиотиком не отмечалось.

Обзор является содержательным, имеет аналитический характер и при желании читателя позволяет оценить не только путь, уже пройденный в данной области, но и наметить новые перспективные направления в области модификаций природных макролидных антибиотиков. Полагаю, что этот раздел имеет самостоятельную ценность и при небольших модификациях может быть представлен в качестве серьезного обзора для высокорейтингового журнала.

Научная новизна

Целью диссертационной работы Омельчук О.А. является разработка методов селективной химической модификации макролидного антибиотика олигомицина А и получение данных о связи структура-активность. Для достижения поставленной цели были выбраны сайты для направленной модификации структуры олигомицина: двойные С-С и С-О связи макроцикла, боковая гидроксипропильная цепь, а также две наиболее реакционноспособные гидроксильные группы. В ходе выполнения исследования были впервые получены следующие основные научные результаты:

1. Разработаны методы селективного восстановления двойных связей макроцикла олигомицина: всех трех С-С связей или только диеновой системы; показана возможность регио- и стереоспецифичного восстановления карбонильной группы до гидроксильной в положении 7, а также последующего стереоселективного восстановления карбонильной группы в положении С11. Также исследованы возможности реакции Прилежаева для окисления двойных С-С связей макроцикла и особенности реакции [4+2] циклоприсоединения активных диенофилов к олигомицину А; разработаны методы селективного окисления и эпимеризации гидроксильной группы в боковой цепи и подобраны условия для одностадийного региоселективного ацилирования гидроксильных групп в положении 9 и 33.

2. Получено 17 новых производных олигомицина А, селективно модифицированных по различным функциональным группам молекулы, а также проведен скрининг их биологических свойств.

3. Анализ связи «структура – биологическая активность» позволил определить наиболее перспективное направление химической модификации антибиотика для улучшения его фармакологических свойств – модификация гидроксильных групп в положениях 33 и 9.

4. Несколько новых производных олигомицина А проявили высокую активность и сниженную токсичность *in vitro* в сравнении с исходным антибиотиком.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

Результаты рецензируемой работы сомнений не вызывают, поскольку получены на основе квалифицированного применения современных методов органического синтеза и физико-химического исследования: ЯМР- и масс-спектроскопии, ИК- и УФ-спектроскопии. Следует отметить, что автор диссертации виртуозно владеет методами ЯМР- и масс-спектроскопии. Высокая чистота полусинтетических производных олигомицина А подтверждена ВЭЖХ анализом. Полученные результаты обсуждены с использованием новых данных современной химической литературы.

Первое положение («химическая модификация антибиотика олигомицина А является перспективным способом оптимизации его биологических свойств (снижения токсичности и сохранения высокой противоопухолевой и противогрибковой активности)») базируется на накопленных к настоящему времени опыте и знаниях в области медицинской химии, химии и биологии антибиотиков. Второе положение («для выявления связи структура-активность целесообразна разработка селективных методов модификации структуры олигомицина А по трем направлениям: (I) трансформация двойных С-С и С-О связей макроцикла, (II) трансформация боковой гидроксипропильной цепи и (III) ацилирование гидроксильных групп антибиотика») основано на анализе литературы (в частности, 4 и 5 разделов обзора, в которых рассматриваются модель связывания олигомицина А с биомишенем и уже имеющийся задел по химической модификации олигомицина А, соответственно). Третье положение («модификацию олигомицина возможно осуществить за 1-2 стадии с использованием коммерчески доступных реагентов без применения защитных групп. Селективность трансформации этого антибиотика достигается за счет различий в реакционной способности функциональных групп, стерических факторов, хирального окружения и подбора реагентов, катализаторов и других условий реакций») не противоречит устоявшимся теоретическим знаниям и полностью подтверждено экспериментальными исследованиями. Четвертое положение («наиболее перспективными направлениями модификации олигомицина являются трансформация боковой гидроксипропильной цепи и ацилирование С9-ОН группы. Ряд производных, модифицированных по С33 и С9 положениям, проявляют высокую активность и сниженную токсичность *in vitro*») также находит подтверждение в результатах проведенного исследования и в целом логично следует из обзора литературы: именно две гидроксильные группы в 33 и 9 положении принимают активное участие в связывании олигомицина А с АТФ-синтазой.

Разработка химических модификаций олигомицина А проводилась с использованием классических и современных методов органического синтеза с использованием коммерчески доступных химических реагентов и катализаторов. Все превращения проводились преимущественно в одну стадию, и только в случае невозможности одностадийной трансформации были предложены двухстадийные схемы синтеза, что свидетельствует о стремлении к максимизации простоты и эффективности получения новых производных олигомицина А. Для реализации региоселективной трансформации олигомицина А не понадобилось использования защитных групп – во всех

разработанных методах селективность химической модификации антибиотика обусловлена различиями в реакционной способности функциональных групп, их пространственного и хирального окружения или обеспечена подбором реагентов, катализаторов и других условий реакций.

Для оценки биологических свойств новых производных олигомицина были проведены исследования их противогрибковых свойств и антипролиферативной активности в отношении линий опухолевых клеток, чувствительных к действию олигомицина А. Для наиболее активных производных оценка антипролиферативной активности также проводилась в отношении сублиний опухолевых клеток с МЛУ и неопухолевых клеток человека.

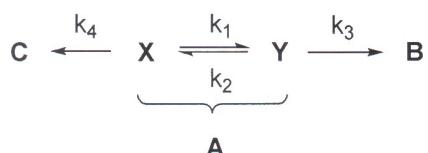
Практическая значимость

Практическая ценность полученных результатов заключается в получении сведений о химических свойствах олигомицина А и получении ряда его полусинтетических производных, перспективных для дальнейших доклинических исследований. Кроме того, полученные данные о связи структура-активность и примененные методы трансформации могут быть использованы для модификации других антибиотиков, близких по строению к олигомицинам (например, маклафунгина и неомаклафунгинов, оссамицина, дунаймицинов и ушекулидов – антибиотиков с высокой противогрибковой и иммunoупрессорной активностью).

Замечания

Исследование выполнено на очень высоком научном уровне, диссертация отличается связностью и логичностью изложения, что говорит об Авторе, как о сложившемся ученом и компетентном специалисте в области органической и медицинской химии, владеющим широким кругом практических навыков и теоретических знаний. По работе отсутствуют сколько-нибудь серьезные замечания. Имеются вопросы, носящие дискуссионный характер:

1. В литературном обзоре в разделе 1.4. «Особенности механизма действия и биологической активности олигомицина А и других макролидных ингибиторов АТФ-синтазы» для доступности повествования не хватает иллюстративного материала.
2. В чем причина различной региоселективности реакций олигомицина А с трифтруксусным и с янтарным ангидридами?
3. Какие основания с точки зрения медицинской химии в выборе в качестве диенофилов бензохинона и малеимидов?
4. При описании квантово-химических расчетов [4+2] циклоприсоединения бензохинона и малеимидов к олигомицину А указаны только названия используемых методов, а параметры расчетов отсутствуют как в обсуждении результатов, так и в экспериментальной части.
5. В диссертации хотелось бы увидеть более подробные обоснования и объяснения, почему для установления строения продуктов **8**, **12a,b** и **14a** использовался принцип Кёртина-Гаммета, устанавливающий соответствие между конформационными равновесиями быстро взаимопревращающихся конформеров и их реакционной способностью,



где Х и У – конформеры одного и того же соединения А; В и С – продукты реакций; $k_1 - k_4$ – константы скорости реакций, при условии, что k_1 и $k_2 \gg k_3$ и k_4 .

На стр. 104 диссертации (Рис. 2.4) изображено равновесие *S*-*цис* и *S*-*транс* конформеров олигомицина А с соотношением заселенностей (стр. 103) *S*-*цис*/ *S*-*транс*, составляющей $1 : 3.4 \times 10^5$, что не противоречит принципу Кертина-Гаммета. При этом, *S*-*цис* конформер, способный вступать в реакции Дильса-Альдера, судя по всему, сам находится в состоянии многочисленных конформационных трансформаций. Вопросы: Какая кинетическая модель использовалась авторами для реализации принципа Кертина-Гаммета? Как контролировалось выполнение условий « k_1 и $k_2 \gg k_3$ и k_4 »? Не проводились ли исследования с применением низкотемпературной ЯМР-спектроскопии для «фиксации» *S*-*цис*/ *S*-*транс* конформеров? На рис. 2.7 (стр. 113), полагаю, следует оперировать не геометриями переходных состояний, а свободными энергиями переходных состояний.

6. Структура аддуктов олигомицина А с бензохиноном и малеимидами отражена не очень удачно, т.к. невозможно понять, какова стереохимия положений 41, 46 у соединения 8, и положений 41, 51 у соединений **12a,b** и **14a,b**.
7. В биологической части работы отсутствует информация о том, какие методы использовались для исследования биологической активности; соответствующие методики отсутствуют и в экспериментальной части.
8. Полагаю, что следовало обобщить открытые закономерности SAR с использованием иллюстративного материала.
9. В диссертации есть несколько опечаток и неудачных выражений: «снятие защитных групп» (лучше – удаление); «минорный продукт»; стр. 52 – хлорангидрид метансульфокислоты не соответствует таковому на схеме 1.9; стр. 52 – [1+3] циклоприсоединение, которое на самом деле [3+2], хотя и является 1,3-диполярным; «реакция Микаяма» (реакция Мукаяма); стр. 59 «конденсация по Ведсворсу-Эммонсу (реакция Хорнера-Вадсвортса-Эммонса); стр. 104 «выход составляет около 15%», а на схеме 2.6 – 20%; стр. 115 « SnN_2 »; вполне возможно, что правила оформления списка литературы в диссертациях позволяют не указывать всех авторов, НО, полагаю, что не попавшие в список литературы авторы огорчились бы, узнав, что их зовут теперь *et al.*

Очевидно, что указанные вопросы не принципиальны и не могут повлиять на общую высокую оценку работы и, тем более, не ставят под сомнение ценность полученных в ней результатов.

Заключение

Диссертационная работа Омельчук Ольги Александровны является законченным оригинальным научным исследованием, посвященным химической модификации природного антибиотика олигомицина А, которое позволило получить новые ценные данные о химических свойствах этого антибиотика и корреляции структура-активность, а также оценить потенциал разработки новых полусинтетических олигомицинов с высокой химиотерапевтической активностью и сниженной токсичностью.

По теме диссертации опубликовано 6 статей в международных журналах и тезисы 14 докладов на научных конференциях, из них 4 – в рецензируемых международных и российских журналах (FEBS, FEBS OpenBio, Российский биотерапевтический журнал). Печатные работы и автореферат в полной мере отражают содержание диссертации.

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования, могут быть рекомендованы для применения в научных организациях, работающих в области синтеза и исследования биологически активных веществ: Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, РОНЦ им. Н.Н. Блохина, Химический факультет ННГУ им. Н.И. Лобачевского, ИОХ им. Н.Д. Зелинского, ИМХ им. Г.А. Разуваева РАН, ИБМХ им. В.Н. Ореховича, ИБХ РАН, РХТУ им. Д.И. Менделеева и др.

Диссертационная работа «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, безусловно, 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**.

Заведующий кафедрой органической химии Химического факультета Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского д.х.н., профессор РАН, доцент
11 мая 2021 г.

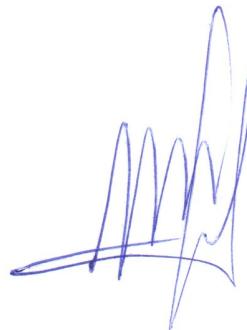
Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
02.00.03 – «органическая химия».

Контактные данные:
Тел.: +7-910-872-3870
E-mail: afedorovnn@yandex.ru

Адрес официального места работы:
603950 Нижний Новгород, пр. Гагарина 23,
ННГУ им. Н.И. Лобачевского, к. 2

Подпись Федорова А.Ю. удостоверяю
к.соц.н., ученый секретарь
Федерального государственного
автономного образовательного
учреждения высшего образования
"Национальный исследовательский
Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского"

Федоров А.Ю.



Черноморская Л.Ю.

