

## Отзыв официального оппонента

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

Распространение инфекционных заболеваний вызванных лекарственно-устойчивыми штаммами микроорганизмов приобретает катастрофический размах. Низкие темпы разработки новых антимикробных препаратов могут привести к масштабному кризису здравоохранения уже в ближайшее время. Поэтому поиск новых антибиотиков является как никогда актуальной задачей. К сожалению, эта задача достаточно сложная. Некогда популярный подход скрининга химических библиотек для поиска новых антибиотиков оказался малопродуктивным. Нам приходится снова возвращаться к природным источникам биологически активных соединений. Работа Веры Александровны посвящена исследованию липопептидных и поликетидных антибиотиков, продуцируемых некоторыми штаммами стрептомицет.

Диссертационная работа В.А. Алферовой хорошо оформлена и документирована. Текст написан понятно, на хорошем русском языке. Объем проделанной работы весьма внушителен, а полученные автором диссертации результаты, имеют очевидную и существенную ценность не только для науки, но и для практики. Хотелось бы сразу подчеркнуть, что, по моему мнению, диссертационная работа Веры Александровны, безусловно заслуживает степени кандидата химических наук, а последующие замечания носят скорее характер советов по улучшению текста.

Диссертация изложена на 218 страницах машинописного текста, содержит 19 таблиц, 82 иллюстрации и 25 приложений. Диссертация построена по традиционному образцу, состоит из трех глав (Обзор литературы, Обсуждение Результатов и Экспериментальную часть), Введения, Заключение и Выводов. Список процитированной литературы включает 327 источников.

**Введение** содержит лаконичное, но емкое обоснование актуальности и значимости исследования. В этом разделе указана цель исследования и перечислены основные результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы. Раздел содержит подробное описание личного вклада автора и вклад коллег, которые помогали в работе. Список работ, опубликованных по теме диссертации весьма внушителен для кандидатской диссертации: он включает в себя 7 публикаций в рецензируемых российских и

международных научных журналах, в том числе 4 статьи с первым авторством, 12 докладов на научных конференциях и 3 патента.

**Цель** работы сформулирована адекватно, но несколько размыто. Вместо «Целью .. было установление структуры и изучение антибиотической активности вторичных метаболитов, продуцируемых стрептомицетами» уместнее было бы написать не просто «...некоторых вторичных метаболитов...» и/или указать штаммовую принадлежность стрептомицет. То же самое касается и 4й **задачи** исследования – безусловно задачей любого исследования является накопление данных, однако это редко озвучивается.

Глава **Обзор литературы** состоит из трех разделов. В ней, следуя общему плану, подробно описаны особенности структуры, биосинтеза и механизмов действия анионных макроциклических липопептидных антибиотиков и двух семейств макролидных антибиотиков - 20-членных макролидов и нафтохиноновых неполиеновых макролидов. Все три раздела имеют непосредственное отношение к теме и объектам исследования и содержат необходимый объем информации.

Глава, которая не совсем стандартно называется **Обсуждение результатов** по-сути содержит сами результаты и их обсуждение. Результативная часть диссертационной работы Веры Александровны содержит ценнейшую фактическую информацию. Эта глава состоит из четырех разделов, каждый из которых посвящен исследованию одного из антибиотиков.

В первом разделе подробно описывается определение структуры кристалломицинов, антимикробных соединений, выделенных в 1957 г в Институте им. Гаузе. Автор с применением современных методов ЯМР убедительно показывает, что кристалломицины идентичны сравнительно недавно описанным липопептидным антибиотикам аспартоцинам В и С. Помимо структуры, автор также исследовала спектр чувствительных микроорганизмов (это грам положительные бактерии, в том числе клинически важные патогены).

Второй раздел посвящен исследованию новых антибиотиков астолидов. Основную часть раздела занимает подробное описание определения структуры соединений методами ЯМР. Автор описывает методику выделения антифунгальных соединений и спектр чувствительных микроорганизмов

Третий и четвертый разделы **Обсуждения результатов** посвящен исследованию биоактивных соединений, синтезируемых *Streptomyces* sp. ВКПМ Ас1980. Автору удалось не только разделить соединения с антибактериальной и антифунгальной активностью, но и подробно изучить соединения, отвечающие за эти активности. В ходе изучения противогрибковых антибиотиков соискатель обнаружила и изучила ранее неизвестный изомер ирумамицина, названный изоирумамицин. Помимо структурных исследований

антибиотика, автор также провела подробный биоинформатический анализ кластера генов, предположительно отвечающего за биосинтез ирумамицина. Важно отметить, что Вера Александровна также показала, что клеточной мишенью ирумамицина является митохондриальная АТФаза дрожжей.

Самый обширный раздел диссертации посвящен исследованию новых антибиотиков, названных гауземицинами. В результате многостадийной очистки автором были выделены соединения гауземицин А и В, установлена их структура. В ходе работы обнаружены ранее неизвестные и редкие модификации антибиотиков, а на основе анализа предполагаемого кластера генов биосинтеза предложен путь биосинтеза антибиотика. Соискателем проведена огромная работа по определению потенциальной мишени действия гауземицинов. Хотя эта работа пока не увенчалась однозначной идентификацией, Вере Александровне удалось существенно сузить диапазон дальнейшего поиска.

Глава под названием «**Экспериментальная часть**» написана очень подробно. Арсенал использованных в работе методов очень широк, он включает в себя микробиологические методы, разнообразные методы экстракции и очистки биологически активных соединений, химический синтез соединений, ЯМР, масс-спектрометрию, молекулярно-биологические методы и биоинформатику. Глава содержит подробные протоколы и может быть использована как настольная книга для начинающих исследователей.

В разделе «**Заключение**» автор кратко суммировала полученные результаты.

**Выводы**, сделанные в диссертации, полностью отражают суть полученных результатов.

В ходе ознакомления с диссертацией Алферовой В.А. у меня возникли незначительные замечания и вопросы, носящие исключительно технический характер и не влияющие на оценку качества работы.

Вопросы:

1. Наблюдалось ли в штаммах-продуцентах антибиотиков семейства ирумамицина образование эпоксидированного аналога X14952В или аналога с уменьшенным размером макролактона?
2. Чем может быть обусловлена узкая для мембраноактивного соединения видоспецифичность гауземицина?
3. В чем предполагаемая причина удвоения хроматографических пиков индивидуальных соединений при разделении компонентов комплекса гауземицинов на нормальнофазовой хроматографии (Рис. 62)?

Технические замечания:

4. Хотя работа написана хорошо, тем не менее в тексте остались некоторые опечатки и стилистические шероховатости. Так в тексте часто встречается словосочетание «взаимосвязь структура-активность», которое можно было бы заменить на более привычное «взаимосвязь структуры и активности». Не совсем понятно, что значит словосочетание «санитарные условия» (стр. 10).
5. По каким-то причинам последняя страница диссертации оказалась пронумерованной.
6. При указании измеренных масс ионов аспартоцинов методом ESI-HRMS было бы полезно привести также и расчетные массы соединений.

Рецензируемая работа, вне всякого сомнения, является хорошо спланированным и завершённым исследованием. По объёму и качеству выполненной работы представленная диссертация существенно превышает средний уровень кандидатских диссертаций. Важно, что полученные в работе результаты имеют не только фундаментальное, но и практическое значение. Автореферат соответствует содержанию диссертации, а в семи публикациях и трех патентах автора отражены практически все результаты. По содержанию, актуальности, новизне, научному и методическому уровню, практической ценности полученных результатов диссертационная работа Алферовой Веры Александровны полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук и установленным «Положением о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 № 1539), а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – «биоорганическая химия».

Заведующий учебной биомедицинской лабораторией,  
д. б. н. *Дубилей Светлана Алексеевна*

*17* марта 2022 г.

**Адрес места работы:**

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования  
«Сколковский институт науки и технологий»  
121205, Большой бул., 30. 1 Москва,  
Тел. +7 (495) 280 14 81.  
E-mail: [s.dubiley@skoltech.ru](mailto:s.dubiley@skoltech.ru)

Подпись д.б.н. Дубилей С.А.  
«Удостоверяю»

РУКОВОДИТЕЛЬ ОТДЕЛА  
КАДРОВОГО АДМИНИСТРИРОВАНИЯ



*С.А. Дубилей*

*С.А. Дубилей*