

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института элементоорганических соединений
им. А.Н. Несмеянова
Российской Академии Наук
доктор химических наук, профессор, академик РАН
Музафаров А.М.



Отзыв

ведущей организации о диссертационной работе Дурандина Никиты Александровича «Физико-химические характеристики аналогов оливомицина А и их комплексов с ДНК», представленной на соискание на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 - физическая химия

Диссертационная работа Дурандина Никиты Александровича посвящена изучению взаимодействия противоопухолевых соединений аналогов оливомицина А с ДНК различного состава и структуры, как основной мишени данной группы химиотерапевтических препаратов. Актуальность проблемы обусловлена необходимостью поиска новых противоопухолевых препаратов с высокой аффинностью к ДНК и, как следствие, с выраженной биологической активностью. Изучение параметров взаимодействия новых производных оливомицина с ДНК различной структуры, проведенное в диссертационной работе, является крайне важным для понимания механизма их действия. Данные аспекты являются ключевыми при поиске и конструировании новых лекарственных средств, способных эффективно влиять на процессы взаимодействия с участием ДНК и белков и активность уже сформированных белок-нуклеотидных комплексов.

В качестве цели исследования заявлено изучение влияния структуры аналогов оливомицина А на их комплексообразование с двухцепочечной (дц) ДНК и определение физико-химических характеристик этих аналогов и образующихся комплексов.

На защиту выносятся следующие основные положения:

1. Заместители, как сахаридных цепей, так и боковой цепи агликона, производных оливомицина А существенно влияют на способность этих соединений к комплексообразованию с ДНК.

2. Сайт связывания транскрипционного фактора Sp1 является высокоспецифичной мишенью оливомицина А. Изменение состава нуклеотида приводит к существенному изменению характеристик комплексообразования.

3. Комплексообразование оливомицина А с ДНК в составе холестерической жидкокристаллической дисперсии приводит к нарушению пространственной организации дисперсии.

Для достижения заявленной цели были проведены исследования комплексообразования дцДНК с *O*-ацилзамещенными А-олиозой и Е-оливомикозой оливомицинов, а также проанализировано влияние заместителей в боковой цепи агликона оливомицина А на процесс комплексообразования с дцДНК. Установлено, что наиболее высокую константу связывания с ДНК демонстрируют гидрофобные ацильные производные, а деацилирование приводит к отсутствию или слабому комплексообразованию. В тоже время, было установлено, что аналог оливомицина А с заместителем в положении С₃, несущим положительный заряд, обладает высокой афинностью к ДНК одновременно с высокой антипролиферативной активностью.

Следует отметить раздел, посвященный исследованию комплексообразования антибиотика оливомицина А в зависимости от последовательности олигонуклеотидов, несущих сайты связывания транскрипционных факторов Sp1, NFAT. В нем впервые описан метод остановленной струи для изучения кинетического механизма связывания оливомицина А с олигонуклеотидами различной последовательности. Ранее в литературе данный метод применяли лишь для изучения комплексообразования оливомицина А с ДНК тимуса телят, что привело к неоднозначным выводам. В работе Дурандина Н.А, было отмечено, что несущественные изменения в составе олигонуклеотида, несущего сайты связывания транскрипционных факторов Sp1, NFAT приводили к значительному уменьшению констант скоростей реакций с участием оливомицина А и олигонуклеотидов, а так же к уменьшению констант комплексообразования.

Жидкокристаллические дисперсии ДНК (жкд-ДНК) являются одной из моделей молекулярно-организованных систем на основе нуклеиновых кислот. Очевидно, что при внедрении соединения в состав ДНК, образующих жидкокристаллическую фазу, может нарушаться холестерическая структура жкд-ДНК, что обуславливает биологическую активность этого соединения. В диссертационной работе проведено оригинальное исследование комплексообразования оливомицина А с холестерической жидкокристаллической дисперсией на основе ДНК. Было отмечено, что вызванные изменения в структуре жидкокристаллической дисперсии под действием оливомицина А происходят в отсутствие ионов магния, который, как ранее считалось, является необходимым для проявления его биологической активности, что может рассматриваться как новый механизм его противоопухолевого действия.

Таким образом, диссертация Дурандина Н.А. является завершенным научным исследованием, посвященным изучению зависимости «структурасвойства» аналогов оливомицина А и их комплексов с ДНК, и с ее высоко компактной формой в виде жидкокристаллической дисперсии. Это исследование основано на применении методов абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии для изучения комплексообразования в стационарном состоянии, а так же кинетических методов для разрешения механизмов реакций с участием приведенных выше реагентов. Детальная информация о взаимодействии данной группы биологически активных соединений является крайне важной, как для фундаментальной науки, так и для прикладных исследований в области рационального создания новых противоопухолевых препаратов. Цели и задачи, поставленные в работе, достигнуты. Выводы и заключения четко сформулированы и обоснованы.

Литературный обзор соответствует теме диссертационной работы, в нем изложены основные аспекты комплексообразования лигандов с ДНК. Как частный случай, были рассмотрены современные подходы в изучении взаимодействия производных ауреоловой кислоты и оливомицина А с ДНК тимуса телят и более коротких олигонуклеотидов с конкретными последовательностями пар оснований различными физико-химическими методами. Также отмечены основные достижения в этой области химии.

Работа прошла апробацию на ряде отечественных и международных конференций и симпозиумах, основные результаты описаны в 3-х статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 2-х статьях в сборниках трудов. В диссертации присутствуют необходимые ссылки на работы, выполненные диссертантом в соавторстве, заимствованные материалы и результаты без ссылок на авторов и источник заимствования отсутствуют. Автореферат в полной мере отражает результаты, представленные в диссертационной работе, которая полностью соответствует специальности 02.00.04 – физическая химия.

У ведущей организации нет принципиальных замечаний, затрагивающих существо настоящей работы. Однако при прочтении диссертации возникает ряд замечаний.

1. Флуоресцентные исследования несомненно важны и могут быть использованы для анализа возникающих взаимодействий при комплексообразовании ряда производных оливомицина А с ДНК. Очевидно, что наблюдаемые изменения флуоресценции являются совокупностью изменений, вызванных сменой природы окружающего частицу оливомицина А растворителя от полярного водного до гидрофобного окружения ДНК, а также вызванных специфическими взаимодействиями оливомицина А с ДНК. Иногда бывает полезно предварительно проанализировать изменение флуоресценции оливомицина А в растворителях различной полярности (вода, спирт, бензол, гексан), чтобы понять какие из наблюдаемых при залегании в малую бороздку ДНК изменений характеризуют смену окружающего растворителя, а какие изменения специфичны для процесса ассоциации с ДНК.

2. Константы комплексообразования оливомицина А с ацильными заместителями в составе А-олиозы и Е-оливомикозы с ДНК находятся на уровне 10^2 - 10^3 М⁻¹. Это очень низкие значения для предложенной модели залегания в малую бороздку. Не реализуется ли здесь механизм неспецифической ассоциации за счет электростатических взаимодействий?

3. Для установления механизма залегания в малую бороздку недостаточно одних данных КД спектроскопии. Вероятно, необходимы дополнительные исследования изменений вязкости растворов ДНК и изменения температуры плавления ДНК в присутствии производных оливомицина А.

Практическая значимость работы Дурандина Н.А. заключается в том, что на основе количественных данных комплексообразования с ДНК для ряда производных оливомицина А формируется основа для рационального дизайна новых химиотерапевтических препаратов данного химического класса. На основе скрупулезного изучения зависимостей физико-химических характеристик оливомицина А от последовательности олигонуклеотидов, участвующих в комплексообразовании, была найдена высокоспецифичная мишень действия оливомицина А, а именно, сайт связывания транскрипционного фактора Sp1, что задает новый вектор в создании препаратов таргетной терапии рака.

Результаты могут быть использованы в естественнонаучных факультетах таких университетов как МГУ имени М.В. Ломоносова, СПбГУ, НИЯУ МИФИ, МФТИ, ПМГМУ им. И.М. Сеченова и др.; в Институте биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Институте молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта, Институте физико-химической медицины ФМБА, Российского Онкологического Научного Центра имени Н.Н. Блохина, Институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова, Институте биологии гена, Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Материал диссертационной работы может быть использован также и в образовательных целях в учреждениях, в которых готовят специалистов в области биофизики, физической химии, химии природных соединений, биоорганической химии, фармации.

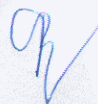
На основании изложенного выше можно сделать заключение о том, что по своей актуальности, новизне, объему и достигнутым результатам работа Дурандина Н.А. отвечает требованиям к кандидатским диссертациям и содержит решение задачи установления влияния структуры аналогов оливомицина А на их комплексообразование с двухцепочечной ДНК и определения физико-химических характеристик этих аналогов и образующихся комплексов. Данная диссертационная работа соответствует пункту 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, а ее автор – Дурандин Н.А. – заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 - физическая химия.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании научного коллоквиума Лаборатории
Фотоактивных Супрамолекулярных Систем 15 сентября 2014 года.

Заведующая лабораторией

фотоактивных супрамолекулярных систем,

доктор химических наук, профессор



Федорова Ольга Анатольевна

Федеральное бюджетное государственное учреждение науки

Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова

Российской Академии Наук

г. Москва, 119991, В-334, ул. Вавилова, 28.

телефон: 8-499-135-80-98

E-mail: fedorova@ineos.ac.ru

