

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Лучниковой Натальи Алексеевны «Трансформация пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда с использованием актиномицетов рода *Rhodococcus*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология

Актуальность исследования. Решение проблемы глобальной нехватки безопасных, эффективных, качественных лекарств требует развития эффективных подходов к синтезу биологически активных веществ. Среди методов получения фармакологически значимых соединений выгодно выделяется микробная конверсия веществ растительного происхождения, в частности пентациклических тритерпеноидов. Поскольку микроорганизмы, в особенности актиномицеты, являются неисчерпаемым источником биоактивных соединений, они могут использоваться в качестве перспективных катализаторов процессов направленной конверсии нативных терпеновых соединений за счет высокой трансформирующей активности в экстремальных условиях среды, а также исключительной химической селективности катализируемых процессов. Всё это определяет актуальность диссертационного исследования Н.А. Лучниковой, тематика которого посвящена изучению способности актиномицетов рода *Rhodococcus* к биотрансформации пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда на примере олеаноловой и глицирретовой кислот и полностью отвечает тенденциям развития биотехнологии в России.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов диссертации. Диссертантом вынесены на защиту пять положений, экспериментальное обоснование которых последовательно раскрывается в тексте рукописи. Обширный фактический материал, полученный в результате выполнения значительного объема экспериментов, автору удалось наилучшим образом упорядочить и изложить в компактной и адекватной форме. Выводы, сформулированные по результатам исследования, достаточно объективны и

информативны, достоверность их подтверждена большим объемом экспериментальных данных, широким разнообразием использованных в работе современных методов научных исследований – от микробиологических, микроскопических, биохимических, молекулярно-генетических до спектроскопических, хроматографических, а также методов компьютерного прогнозирования и биоинформатики. Для корректной интерпретации результатов исследований автором проведена тщательная статистическая обработка данных. Полученные экспериментальные данные максимально полно представлены не только в 18 информативных таблицах, но и 58 графиках и рисунках, поскольку именно графическое изображение результатов измерений, а также микрофотографии, электронограммы весьма наглядно и доступно, даже для специалистов другого профиля передают научную информацию. В отличие от таблиц, приведенные в работе графики позволяют достаточно быстро и точно сравнивать массивы данных между собой, в том числе учитывая статистическую значимость различий.

Научная новизна исследования не вызывает сомнений и отражена в полученных сведениях, расширяющих представление о биокаталитическом потенциале актиномицетов рода *Rhodococcus* и возможности их использования в качестве перспективных биопродуцентов новых фармакологически активных соединений из растительных тритерпеноидов. Автором впервые показана способность актиномицетов к окислительной трансформации пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда; выявлены адаптивные реакции бактериальных клеток на присутствие олеаноловой и глицирретовой кислот; обнаружены новые реакции их преобразования и идентифицированы метаболиты, менее токсичные по сравнению с исходными кислотами и обладающие фармакологическим действием, в том числе новое полиоксигенированное соединение с прогнозируемой биологической активностью; обнаружены гены, кодирующие ферменты окислительной трансформации тритерпеноидов; с использованием биоресурсов

специализированной микробной коллекции отобраны штаммы с высокой каталитической активностью в отношении олеаноловой и глицирретовой кислот и разработан оптимальный режим процесса бактериальной трансформации тритерпеноидов.

Значимость полученных результатов для науки и практики. В диссертационной работе Н.А. Лучниковой раскрыты фундаментальные и прикладные аспекты решения проблемы получения новых производных терпеновых соединений с выраженным фармакологическим действием. Теоретическая ценность исследований представляется в виде полученных новых приоритетных (уникальных) данных о каталитических возможностях использованных в работе бактерий, их способности к окислению олеаноловой и глицирретовой кислот для получения биоактивных соединений. В результате проведенных экспериментов обнаружено, выделено и идентифицировано новое полиоксигенированное соединение с прогнозируемой биологической активностью, способ получения которого защищен Патентом на изобретение РФ; выявлены особенности воздействия тритерпеноидов на бактерии; подобраны рациональные условия максимального выхода целевых соединений; составлен каталог бактериальных генов окисления тритерпеноидов. Всё это, несомненно, обеспечивает возможность создания рациональных, эффективных, экологически безопасных биотехнологических способов получения новых фармакологически перспективных соединений и разработки лекарств на основе пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда.

Общая характеристика диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 176 страницах машинописного текста, включает традиционные структурные составляющие: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, пять глав собственных результатов и их обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и список цитируемой литературы из 210 наименований работ, среди которых лишь 9 статей отечественных и 201 статья зарубежных авторов.

Во «Введении» автор аргументирует актуальность предпринятых исследований, формулирует цель и задачи исследования, излагает теоретическую и практическую значимость работы.

Продуктом теоретических изысканий диссертанта является представленный «Обзор литературы» по теме исследования, свидетельствующий о высоком уровне академической подготовки автора. Обзор следует отнести к числу несомненных достоинств настоящей работы, поскольку написан объективно хорошим литературным языком с позиции критики и обсуждения пробелов в изучаемой области исследований. Следует особо отметить, что автором проведен очень качественный отбор научной литературы, что позволяет представить детальную картину текущего состояния исследований по биотрансформации пентациклических тритерпеноидов, а также их распространению, биосинтезу и биоактивности. При этом особое внимание автора уделено вопросам оценки преимуществ использования актиномицетов для трансформации сложных гидрофобных соединений. Недаром этот материал опубликован в высокорейтинговых научных журналах *Molecules* и *Pharmaceuticals*, принадлежащих к первым двум квартилям.

В главе «Материалы и методы» описаны объекты и методы исследования, используемые в работе. Данные методы адекватны поставленным задачам, включают широкий спектр традиционных микробиологических и современных аналитических, биохимических, микроскопических, молекулярно-генетических методик и способов компьютерного анализа данных.

Результаты собственных исследований изложены и выстроены логично, последовательно и системно, отражают решаемые автором задачи и сопровождаются критической оценкой и сопоставлением с опубликованными известными данными. В главе 3 приводятся сведения о способности коллекционных штаммов родококков использовать пентациклические тритерпеноиды в качестве единственного источника углерода, результаты изучения динамики и кинетики процесса биотрансформации тритерпеноидов

родококками в высокой (1,0 г/л) концентрации, в главе 4 – данные об особенностях взаимодействия и ответных реакциях бактериальных клеток на присутствие тритерпеноидов, в главе 5 – результаты поиска оптимальных условий биоконверсии тритерпеноидов, обеспечивающих наибольший выход целевых производных, в главе 6 – данные по идентификации полученных производных тритерпеновых кислот и оценке их потенциальной и фактической биоактивности, в главе 7 – результаты молекулярно-генетического и биоинформатического анализа геномов отобранных штаммов-биотрансформаторов и определения локализации целевых ферментных систем.

«Заключение» диссертационной работы дает представление о значимости и специфике выполненного исследования, акцентирует внимание на основных полученных результатах, определяет перспективы их использования в науке и практике.

«Выводы» диссертационной работы отражают суть проведенных исследований, лаконично сформулированы и соответствуют поставленным задачам.

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования, в достаточной мере опубликованы в научной печати и доложены на научных конференциях разного уровня. Список публикаций содержит 10 работ, в том числе 4 в изданиях, входящих в перечень ВАК РФ (*Микробиология*) и международные системы научного цитирования Web of Science и Scopus (*Catalysts*, Q2; *Molecules*, Q2, *Pharmaceuticals*, Q1). Подана заявка на выдачу патента на изобретение РФ «Способ получения 5 α ,22 α -дигидроксигипсогеновой кислоты с использованием клеток *Rhodococcus rhodochrous*».

Автореферат диссертации Лучниковой Н.А. полностью отражает основные результаты и выводы диссертационной работы, что дает объективное представление о ее содержании.

На основании вышеизложенного можно констатировать, что диссертационная работа Лучниковой Н.А. выполнена на высоком профессиональном уровне, тщательно оформлена в полном соответствии с требованиями ВАК РФ и представляет собой пример эффективного проведения междисциплинарных исследований, занимающих нишу на стыке общей микробиологии и химии природных соединений.

По работе принципиальных замечаний нет. Вместе с тем хотелось бы высказать ряд соображений и уточнить позицию автора по ряду вопросов:

1. Почему количественный анализ олеаноловой и глицирретовой кислот проводился разными методами: ВЭЖХ и ГХ-МС?

2. При обсуждении результатов было бы целесообразно пояснить, чем обусловлен выбор 148 штаммов для скрининга трансформирующей активности. Обладают ли бактерии штаммов, способных к биотрансформации тритерпеновых кислот, общими характеристиками? Согласно полученным данным, возможно ли прогнозировать присутствие бактерий с аналогичными свойствами в той или иной экологической нише?

3. Антибактериальные эффекты тритерпеновых кислот и продуктов их биотрансформации, выявленные в опытах *in vitro*, проявляются лишь при высоких значениях МПК в отношении тест-бактерий. По вашему мнению, можно ли рекомендовать эти соединения для более глубоких исследований их антимикробного потенциала?

Стоит отметить, что указанные замечания имеют исключительно рекомендательный характер и не умаляют общей высокой оценки диссертационного исследования.

Заключение. Диссертационная работа Лучниковой Натальи Алексеевны, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершенной научно-квалификационной работой. По объему выполненных исследований, актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертация соответствует требованиям пп. 9–14

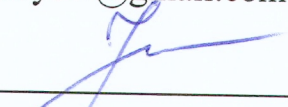
Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (с изменениями и дополнениями в редакции № 1539 от 11.09.2021), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор Лучникова Н.А. заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Официальный оппонент
доктор медицинских наук по специальности 03.00.07. Микробиология,
профессор кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

614990, Российская Федерация, Пермский край, г. Пермь, ул. Полевая, 2.

Тел.: +7 (342) 282 58 42

E-mail: neschislayew@gmail.com


_____/ Несчисляев Валерий Александрович /

« 30 » октября 2023 г.

Подпись Несчисляева В.А. заверяю

Первый проректор – проректор по научной работе

ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, д.ф.н. _____ Н.В. Дозморова

« 30 » октября 2023 г.

