

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лучниковой Натальи Алексеевны «Трансформация пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда с использованием актиномицетов рода *Rhodococcus*», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология, в диссертационный совет 24.1.233.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, на соискание ученой степени кандидата наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»

### **Актуальность темы исследования.**

Отмечающийся рост социально значимых заболеваний и дефицит высокоэффективных фармакологических средств для их лечения свидетельствует об актуальности получения новых химических соединений с биологической активностью на основе растительных пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда с выраженной противовирусной, антимикробной, противовоспалительной, противоопухолевой и гепатопротекторной активностью. В технологиях их получения чаще используют химические методы, которые реализуются в условиях экстремальных показателей кислотности, температуры и часто требуют применения дорогостоящих катализаторов или введения защитных групп реакционно-активных центров молекулы. Однако в последние годы наряду с химической модификацией получения препаратов всё чаще предпринимаются попытки получения фармакологических средств путем биологической трансформации олеаноловой и глицирретовой кислот с использованием микроорганизмов. Это обусловлено исключительной хемо- и стереоселективностью катализируемых реакций, отсутствием необходимости в защите реакционно-активных центров молекулы и устойчивой активностью микроорганизмов в экстремальных условиях среды. Однако на сегодняшний день в процессах биотрансформации ОК и ГК используют грибы, но эти процессы характеризуются сравнительно низким (от 2,6 до 43,2%) уровнем биоконверсии субстрата, технологически нецелесообразны из-за мицелиального характера роста грибов, что потенциально опасно ввиду способности их к выработке микотоксинов с выраженным мутагенным и канцерогенным действиями. Именно это и говорит об актуальности поиска новых бактериальных катализаторов направленной трансформации ОК и ГК.

Научно-практический интерес в биотехнологии получения новых бактериальных катализаторов направленной трансформации ОК и ГК представляют актиномицеты рода *Rhodococcus*, обладающие способностью к направленной биоконверсии пентациклических тритерпеноидов.

Всё сказанное свидетельствует об актуальности проведенного исследования способности коллекционных штаммов актиномицетов к окислительной трансформации пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда на примере олеаноловой (ОК) и глицирретовой (ГК) кислот для получения новых фармакологически активных соединений.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Обоснованность полученных результатов доказана достаточной репрезентативной разноплановой группой проведенных исследований каталитической активности коллекционных штаммов базы данных Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (<http://www.iegmc.ru/strains>) в отношении ОК и ГК.

Выводы диссертационного исследования полностью соответствуют поставленным целям и задачам и вытекают из полученных результатов. Автореферат отражает основное содержание диссертации.

**Новизна исследования, значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов** не вызывает сомнения, так как на основе использования биоресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов, диссертантом впервые на основе комплексного систематизированного исследования проведена оценка способности механизмов взаимодействия бактериальных клеток с тритерпеновыми субстратами, что позволило научно-обоснованно отобрать эффективные биотрансформаторы ОК и ГК, определить оптимальные условия процесса окислительной биотрансформации ОК и ГК с целью максимального выхода целевых продуктов, идентифицировать основные метаболиты ОК и ГК и оценить их биологическую активность, а также определить локализацию ферментных систем, участвующих в процессе окислительной биотрансформации

тритерпеноидов. Исследовать функциональную характеристику генов, кодирующих ферменты метаболизма ОК и ГК.

Выявлены наиболее типичные адаптивные реакции родококков на присутствие тритерпеновых кислот – от изменения морфометрических показателей и рельефа бактериальных клеток до образования в результате адгезии многоклеточных агрегатов, а также синтеза и аккумуляции резервных энергетических веществ. Полученные метаболиты ОК и ГК идентифицированы как 3-оксопроизводные, документированы новые реакции C5 гидроксирования и C23 карбоксилирования молекулы ОК с образованием ранее неопisanного полиоксигенированного метаболита – 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,22 $\alpha$ -тригидроксиолеан-12-ен-23,28-диовой(5 $\alpha$ ,22 $\alpha$ -дигидроксигипсогеновой) кислоты. Показано, что полученные метаболиты обладают пониженной токсичностью по сравнению с исходными кислотами и перспективны в качестве потенциальных противоопухолевых, антиоксидантных и противовоспалительных и антибактериальных агентов.

Использование биоинформатического анализа результатов NGS-секвенирования штаммов-биотрансформаторов *R. rhodochrous* и последующая постановка ПЦР в реальном времени позволила автору выявить гены, ответственные за образование ферментов семейства CYP450, участвующие в процессе биоконверсии тритерпеноидов.

**Теоретическая и практическая значимость работы не вызывает сомнения**, так как полученные сведения расширили представления о биокаталитическом потенциале родококков и возможности их использования в качестве перспективных биопродуцентов новых фармакологически активных соединений на основе растительных пентациклических тритерпеноидов. Отобраны штаммы *R. rhodochrous* ИЭГМ 757, ИЭГМ 1360, характеризующиеся высокой каталитической активностью в отношении ОК и ГК. Получены метаболиты, идентифицированные как 3-оксопроизводные ОК и ГК и обнаружен ранее неизвестный метаболит – 5 $\alpha$ ,22 $\alpha$ -дигидроксигипсогеновая кислота.

Получены данные о полных геномах отобранных штаммов *R. Rhodochrous* внесены в международную базу данных NCBI (National Center for Biotechnology Information, NCBI, [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)), а также переданы во Всероссийскую коллекцию промышленных микроорганизмов под номерами Ас-2189 и Ас-2191 соответственно.

Информация о штаммах-биотрансформаторах тритерпеновых кислот внесена в базу данных Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (<http://www.iegmc.ru/strains>).

Подана заявка № 2023111046 от 28.04.2023 на выдачу патента РФ “Способ получения 5 $\alpha$ ,22 $\alpha$ -дигидроксигипсогеновой кислоты с использованием клеток *Rhodococcus rhodochrous*”.

Результаты исследования используются в учебных курсах “Биоразнообразие и систематика микроорганизмов” и “Введение в биотехнологию” для студентов Пермского государственного национального исследовательского университета.

Критических замечаний по работе нет.

Содержание основных результатов диссертационного исследования «Трансформация пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда с использованием актиномицетов рода *Rhodococcus*», выполненного под руководством доктора биологических наук, профессора, академика РАН Ившиной Ирины Борисовны, является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, посвященной решению важнейшей для микробиологии и фармации задачи, выявления коллекционных штаммов актиномицетов обладающих окислительной трансформацией пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда на примере олеаноловой (ОК) и глицирретовой (ГК) кислот для получения новых фармакологически активных соединений.

Анализ автореферата по диссертации показал, что представленная диссертация является законченной научно-квалификационной работой, выполненной по актуальной для современной микробиологии теме и в

полной мере соответствует критериям п.9 «Положения о порядке присвоения ученых степеней, утвержденного постановлением правительства Р.Ф. №842 от 24.09.2013г. с изменениями Правительства РФ №426 от 20.03.2021г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Лучникова Наталья Алексеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. - Микробиология.

Доктор биологических наук  
(03.02.03-Микробиология), профессор,  
зав. каф. биологии Федерального  
государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего  
образования «Оренбургский  
государственный медицинский  
университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации



*Galina Solovix*  
/Соловых  
Галина Николаевна/

« 08 » ноября 2023г.

г. Оренбург, ул. Советская 6.  
E-mail: gal.nik.solovix@mail.ru  
89128460323

Подпись доктора биологических наук,  
профессора, зав. каф. биологии  
Соловых Галины Николаевны заверяю  
Начальник отдела кадров  
/Бердникова Е.Н./

*E.N. BERNIKOVA*