

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора химических наук, академика РАН Кочеткова Сергея Николаевича,
на диссертационную работу Андреева Ярослава Алексеевича
«Природные лиганды нейрональных кислоточувствительных и
термочувствительных каналов: структурно-функциональная характеристика
и терапевтический потенциал», представленную
на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности
1.4.9 – «Биоорганическая химия»

Актуальность

Диссертационное исследование Андреева Я.А. посвящено актуальной проблеме современной биоорганической химии и нейрофармакологии – поиску природных молекул-модуляторов ионных каналов сенсорных нейронов (TRPV1, TRPA1, ASIC3). Эти каналы вовлечены в механизмы ноцицепции и нейrogenного воспаления и принимают участие в развитии множества патологических процессов. В качестве источника биологически-активных молекул были использованы яды морских анемонов и экстракты лекарственных растений, что представляется методологически оправданным, поскольку в природных образцах можно обнаружить высокоселективные лиганды мембранных белков.

Автором выполнен значительный объем экспериментальной работы: от скрининга коллекции природных образцов до доклинических испытаний двух наиболее перспективных соединений (АРНС3 и севанола).

Научная значимость и новизна

В диссертации получен ряд интересных результатов, среди которых ключевыми являются:

1. Получение первых пептидных ингибиторов TRPV1 канала из морской анемоны *Heteractis crispa* (АРНС1–3), демонстрирующих стимул-зависимый

характер модуляции – свойство, ранее не изученное для природных лигандов этого канала.

2. Открытие пептидных положительных модуляторов TRPA1 (Ms 9a-1, Ueq 12-1), подавляющих болевую чувствительность.

3. Идентификация новых лигандов ASIC3 с различной химической природой (пептиды Ugr 9a-1, Hcr 1b-1; лигнан севанол; алкалоиды линдолдхамин, тетрагидропапаверолин, ретикулин), причем некоторые из них (севанол, Ugr 9-1) ингибируют обе компоненты тока ASIC3 канала.

4. Новые типы пространственной укладки для пептидов Ugr 9-1 и Ueq12-1, что расширяет представление о структурном разнообразии известных токсинов морских анемонов.

Практическая значимость

Результаты работы имеют несомненную практическую ценность:

Пептид APHC3 и севанол являются готовыми кандидатами для расширенных доклинических и последующих клинических исследований в качестве анальгетиков нового типа. Пептиды и низкомолекулярные вещества могут быть использованы в качестве молекулярных инструментов для изучения структуры и функционирования TRPV1, TRPA1 и ASIC3 каналов. Также следует отметить, что скрининг природных экстрактов с последующим выделением молекул, вызывающих десенситизацию TRPA1, может быть использован для выделения низкомолекулярных веществ со схожими свойствами или экстраполирован на другие каналы сенсорных нейронов.

Достоверность полученных результатов и степень обоснованности выводов положений, выносимых на защиту

Использование согласованного набора биофизических и биохимических методов исследования вкупе с адекватным планированием экспериментов позволяет говорить о достоверности полученных данных. Это подтверждается достаточным количеством статей по теме диссертации (46) в журналах,

индексируемых в базах Scopus/Web of Science и рекомендуемых ВАК, а также 7 патентами РФ. Данные работы были также представлены на 38 международных и российских конференциях.

Выводы и положения, выносимые на защиту, логически вытекают из представленных результатов, не содержат внутренних противоречий и соответствуют поставленной цели исследования и ее задачам. Таким образом, представленные в диссертации положения, выносимые на защиту, и выводы являются обоснованными и достоверными.

Общая характеристика работы

Структура диссертации (введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список литературы) соответствует стандартам оформления такого типа работ и не вызывает нареканий.

Содержание работы изложено на 255 страницах. Диссертация содержит 83 рисунка и 4 таблицы, список литературы включает 559 источников.

Раздел «Введение» посвящен актуальности и научной новизне исследования, целям и задачам работы, также приведены основные положения, выносимые на защиту и сведения о теоретической и практической значимости полученных результатов и апробации результатов исследования.

В разделе «Обзор литературы» представлены основные известные факты об открытии и изучении TRPV1, TRPA1 и ASIC3 каналов. Подробно обсуждается роль данных каналов в нормальном функционировании организма и при патологических состояниях.

Раздел «Материалы и методы» посвящен описанию методик, которые были использованы для выполнения экспериментальных задач.

Раздел «Результаты и их обсуждение» состоит из 3 больших подразделов. Первый подраздел посвящен выделению модуляторов TRPV1, с акцентом на пептиды, выделенные из морской анемоны *Heteractis crispa*. Подробно описан весь путь получения и характеристики активных пептидов от активности

суммарного экстракта до характеристики рекомбинантных аналогов *in vitro* и *in vivo*.

Второй подраздел повествует о выделении и характеристике положительных модуляторов активности TRPA1 канала, которое проводилось по аналогичной схеме – скрининг биологических образцов, выделение и структурная характеристика активных компонентов, получение рекомбинантных аналогов пептидов, полноценная характеристика полученных соединений на TRPA1 канале и анализ эффектов пептидов на животных.

Третий раздел посвящен поиску и характеристике модуляторов ASIC3 каналов, как пептидных, так и низкомолекулярных.

Разделы «Заключение» и «Выводы» суммируют полученные результаты в краткой форме.

В ходе ознакомления с диссертацией возникли следующие замечания:

1. **Качество иллюстративного материала.** Некоторые рисунки, имеют низкое разрешение и неудачную цветовую гамму, что ухудшает их восприятие
2. **Стилистика и техническое редактирование.** В тексте диссертации встречаются орфографические и синтаксические ошибки, стилистические погрешности, такие как избыточное повторение одних и тех же оборотов («...представляют интерес... могут послужить основой... представляет большой интерес...»). Эти недостатки, конечно, не влияют на научную ценность, но лучше их избегать.

Заключение по диссертационной работе

Приведенные выше вопросы и замечания носят редакционный и дискуссионный характер и не снижают высокую оценку диссертационной работы Андреева Я.А. Считаю, что работа полностью соответствует критериям, установленным пунктами 9-14 "Положения о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с актуальными изменениями и дополнениями), а сам Андреев Ярослав

