

## О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу С.А.СОРОКИНОЙ «Особенности взаимодействия катионных пиридилфениленовых дендримеров с амилоидогенным белком», представленную на соискание ученой степени по специальностям 02.00.06 – Высокомолекулярные соединения и 03.01.04 - Биохимия

Продукты взаимодействия глобулярных белков с полимерами и методы их получения привлекают широкое внимание последние десятилетия. Некоторые из этих продуктов нашли широкое применение. В качестве примера можно привести иммобилизованные (стабилизированные) ферменты и биоспецифические, в частности, иммуносорбенты. При этом круг систем, содержащих глобулярные белки и полимерные носители и модификаторы непрерывно расширяется. Это определяется появлением новых фактов, показывающих, что взаимодействие с полимерными носителями и модификаторами позволяет в значительной мере оптимизировать биологические функции белков.

В этом отношении диссертационная работа Светланы Анатольевны Сорокиной, посвященная исследованию возможности получения полимерных комплексов катионсодержащих дендримеров с прионом – амилоидогенным белком, особенностью которого является способность его неправильно свернутой формы провоцировать цепное конформационное изменение клеточного прионного белка, сопровождающееся переходом последнего из  $\alpha$ -спиральной формы в амилоидную слоистую форму, является без сомнения актуальной. Актуальность работе придает также то, что прионы вызывают различные заболевания и их модификация может снизить эффект от их токсического действия.

Диссертационная работа С.А.Сорокиной построена традиционно и включает введение (с.5-9), обзор литературы(с.10-57), главу «Результаты и обсуждение» с 6 подразделами (с.58-130), экспериментальную часть (с.-158), выводы (159-160), заключение (с.161), список сокращений (с.162), список литературы (249 наименований) (с.164-193), содержит 54 рисунка и 6 таблиц. Общий объем составляет 193 страницы.

Обзор литературы написан вполне информативно и логично. В нем очень четко для такой сложной работы показана важность задачи исследования, биологическая роль целевого белка, и обсуждены роль полимерного дендримерного модификатора, механизмы взаимодействия компонентов комплекса. Обзор снабжен обширным списком литературы. При этом следует отметить, что большая часть списка относится к литературе опубликованной после 2000 г.

Основное содержание работы составляет рассмотрение синтеза трех дендримеров, содержащих пиридиновые группы, являющиеся точками комплексования с кислыми фрагментами белков, исследования их взаимодействия с белком и особенностей строения и свойств получаемых комплексов.

В первой части обсуждения результатов (Разделы 2.1 и 2.2) достаточно подробно описаны методики получения водорастворимых пиридилфениленовых дендримеров и их характеристики.

Синтез дендримеров может был разделен на два этапа –получение гидрофобных пиридилфениленовых дендримеров и их дальнейший перевод в водорастворимое состояние.

В качестве основной реакции синтеза дендримеров использовалась реакция Дильса-Альдера, протекающая, как утверждает автор, однонаправленно и с высоким выходом, что соответствует основной идеологии синтеза дендримерных макромолекул – использование «чистых» реакций.

Полученные дендримеры были переведены в водорастворимое состояние. Это их алкилирование с помощью диметилсульфата – реакция, которая позволила сохранить исходную отличительную черту таких дендримеров – жесткость, - и, при этом, внесла новое дополнительное преимущество – независимость заряда полученного четвертичного аммонийного поликатиона от рН. Это выгодно отличает данный тип дендримеров от имеющихся дендритных аналогов, чей заряд обуславливается степенью протонирования первичных и вторичных аминов, входящих в их состав. Полученные жесткие структуры, за счет введенных четвертичных аммонийных групп растворимы в воде и могут в гомогенной системе взаимодействовать с белком в основном за счет ионного, а также межмолекулярного взаимодействия.

Следующие разделы главы «Результаты и обсуждение» посвящены взаимодействию дендримеров с прионным белком. В качестве модельного белка в работе был использован овечий прионный белок. На первом этапе (Раздел 2.3) автором определяются основные закономерности взаимодействия: сайты связывания, влияние дендримеров на структуру белка, влияние структуры дендримера на его связывание с белком, устойчивость комплексов. Определяется роль отдельных элементов дендримера в связывании: заряженные пиридинные звенья обуславливают электростатическое взаимодействие с противоположно заряженными участками белка, тогда как фениленовые кольца отвечают за гидрофобные взаимодействия с гидрофобными аминокислотами.

Далее в работе описываются одни из наиболее интересных результатов диссертации – это способность дендримеров ингибировать фибриллизацию белка, а также растворять существующие амилоидные агрегаты (Разделы 2.4 и 2.5). Полученные данные имеют важное практическое значение, так как использованные дендримеры не только предотвращают формирование амилоидных фибрилл, они также блокируют структурную конверсию приона на ранних этапах агрегации. Более того, благодаря гидрофобным взаимодействиям, обнаруженным на предыдущем этапе работы, полученные структуры стабильны и не подвержены (что важно!) повторной агрегации. Не малоинтересны результаты по растворению телец включения прионного белка. Добавление дендримеров приводит к формированию комплексов и их «вытаскиванию» с поверхности агрегатов в раствор. Таким образом, дендримеры способны не только ингибировать агрегацию, но также и разрушать уже сформировавшиеся фибриллярные структуры.

В Разделе 2.6 на двух линиях клеток изучена цитотоксичность дендримеров. Важно, что она оказалась ниже часто используемых коммерчески доступных дендритных аналогов. Однако, автором делается закономерный вывод о том, что в дальнейшем исследования могут быть направлены на возможную модификацию структуры дендримера для снижения токсичности, позволяющую при этом сохранить их потенциал.

Приведенные результаты исследования подтверждают высокий уровень научной новизны проведенного исследования.

Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, подтверждены публикациями в 12 научных работах, в том числе 4

статьях в рецензируемых высокорейтинговых научных журналах, рекомендованных ВАК, и 8 тезисах в сборниках докладов научных конференций.

Значительная практическая значимость диссертационной работы определяется тем, что она выявляет основы подходов к нейтрализации токсического действия прионных белков, что в дальнейшем может быть использовано в разработке методов лечения сложных неврологических заболеваний

Диссертационная работа С.А.Сорокиной соответствует паспортам, специальностей, по которым она защищается: 02.00.06 – Высокомолекулярные соединения в части формулы специальности – пп.1, 3 и области исследования – пп.1,2,3,4,5,9 и 03.01.04 – Биохимия в части Области исследования – пп. 1,4,5,9.

В целом диссертационная работа С.А.Сорокиной производит хорошее впечатление. Она хорошо оформлена практически не содержит опечаток.

По работе можно сделать ряд замечаний:

1. Представляется странным отсутствие в экспериментальной части детальных прописей синтеза продуктов, использовавшихся в диссертации. Приведенная ссылка на публикацию этих материалов *Macromolecules*.- 2005. Тем более, что автор указывает на описание в этих публикациях методов отделения побочных продуктов. Хотелось бы ознакомиться с этим подробнее.

2. Автор отмечает однозначность протекания реакций при синтезе дендримеров, ссылаясь на данные Матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации MALDI. Однако, приведенные спектры показывают, что не все так однозначно (особенно Рис. 18-б). Из материалов диссертации нельзя заключить, что однозначный ответ в этом отношении дают и ЯМР спектры. Так, на с.63 сам автор отмечает, что «получить более детальную информацию о строении дендримеров из спектров ЯМР невозможно ввиду перекрывания сигналов в ароматической области». При этом приводится только спектр одного из полученных дендримеров. В конце концов ввиду важности вопроса остальные спектры можно было дать в приложении.

3. Автор получила хорошие результаты с использованием в качестве кватернизирующего агента диметилсульфата, объясняя это малым размером его молекулы, определяющим возможность проникновения к пиридиновым группам, расположенным во внутренних слоях. Возникает вопрос, а почему худшие результаты были получены с использованием йодистого метила. Очевидно, объяснение полученных данных связано не только с размерами алкилирующего агента.

4. Автор по результатам определения средних гидродинамических диаметров, считает, что дендример генерации G4 образует некоторое количество агрегатов, проявляющееся в ярко выраженном пике (рис.21). Но почему наличие агрегатов не отражается на размерах комплексов дендримеров и белка (рис.30) и фрактограммах дендримеров (рис.24) ?

Приведенные замечания не снижают высокого уровня рецензируемой диссертационной работы, представляющей собой весьма объемное, сложное и качественно выполненное исследование

Считаю, что по критериям актуальности, научной новизны и практической значимости представленная к защите диссертация «Особенности взаимодействия

катионных пиридилфениленовых дендримеров с амилоидогенным белком», полностью соответствует требованиям пп. 9-11 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 года № 842 «О порядке присуждения ученых степеней»), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Сорокина Светлана Анатольевна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.06 – высокомолекулярные соединения и 03.01.04 - Биохимия.

«6» мая 2019 года

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой биоматериалов

ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет

имени Д.И. Менделеева, доктор химических наук, профессор

Штильман Михаил Исаакович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» Адрес: 125047, г. Москва, Миусская площадь, д.9  
Телефон: 8-910-409-04-37. e-mail: shtilmanm@yandex.ru

Подпись профессора М.И. Штильмана

у д о с т о в е р я ю

Ученый секретарь РХТУ им. Д.И.Менделеева

кандидат технических наук, доцент



Калинина Н.К.