

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора химических наук Зиятдиновой Гузель Камилевны
на диссертационную работу Королёвой Полины Игоревны
«Электрохимические цитохром Р450-системы для повышения эффективности
каталитических процессов и анализа межлекарственных взаимодействий»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы диссертационной работы. Одним из активно развивающихся направлений биохимии и биотехнологий является исследование ферментов и их роль в синтезе и метаболизме биологически активных соединений различной природы. Для оценки каталитических свойств и субстрат-ингибирующего действия функционально значимых ферментов представляет интерес применение электрохимических подходов. Среди большого разнообразия ферментов можно выделить ферменты семейства цитохромов Р450, которым отводится ключевая роль в первой фазе биотрансформации гидрофобных соединений, к числу которых относятся и многие лекарственные вещества. Для решения этой задачи хорошо зарекомендовали себя различные электрохимические системы, позволяющие контролировать участие цитохромов Р450 в процессах биотрансформации и в межлекарственных взаимодействиях для более глубокого понимания механизмов метаболизма лекарственных веществ, имеющих значение для разработки новых подходов к лечению широкого круга заболеваний в рамках персонализированной медицины. Таким образом, диссертационная работа П.И. Королёвой, посвященная разработке электрохимических ферментных цитохром Р450-биосенсоров для исследования метаболических профилей лекарственных веществ, изучения межлекарственных взаимодействий и создания эффективных систем биотрансформации биологически активных соединений представляет научный и практический интерес и, несомненно, является актуальной.

Основные достижения диссертанта, которые определяют **научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы**, состоят в оценке межлекарственных взаимодействий на основе электрохимических и кинетических параметров биосенсоров на основе цитохрома Р450. Автором впервые изучено образование на электроде фермент-субстратного комплекса как предшествующей стадии восстановления цитохрома Р450 и показано, что формирование комплекса

повышает эффективность протекания электродной реакции с участием фермента. Разработанные новые биосенсоры на основе нековалентных комплексов цитохрома P450 3A4 и P450 2C9 с флавиновыми кофакторами, мембранного порообразующего белка стрептолизина O или пространственно-упорядоченных наноструктур нанопорового анодного оксида алюминия как подложки для иммобилизации цитохрома P450 3A4 характеризуются высокой скоростью цитохром P450-зависимой электрохимической реакции и могут быть использованы в оценке межлекарственных взаимодействий и субстратного или ингибиторного поведения лекарственных веществ в отношении изоформ цитохрома P450, а также эффективности биотрансформации.

Перспективным направлением практического применения предложенных подходов является синтез лекарственных веществ и синтетических производных стероидных гормонов для решения задач персонифицированной медицины. Следует отметить также возможность оценки интерференции лекарственных препаратов, метаболизируемых цитохромом P450 3A4, применяемых, в частности, для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, вызванных *Helicobacter pylori*.

Структура и содержание диссертационной работы. Диссертация изложена на 103 страницах компьютерной верстки и приложении на 3 страницах. Работа имеет традиционное строение, включает введение, три главы, заключение, выводы, благодарности, список использованных сокращений, список литературы. Она содержит 16 таблиц, 29 рисунков и библиографический список из 187 наименований.

Во *введении* раскрыта актуальность темы диссертации и степень ее разработанности, сформулированы цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, а также положения, выносимые на защиту. Представлены сведения о методологии и методах исследований, об апробации работы и публикациях по ее теме, кратко описана структура и объем диссертации.

В *первой главе* (литературный обзор) подробно рассмотрены характеристики цитохромов P450, механизмы межлекарственных взаимодействий и перспективы создания биореакторов. В отдельных подразделах описаны электрохимические способы оценки электрокаталитической активности цитохромов P450, электрокатализ с их участием и иммобилизация микросом на электродной поверхности. В заключении первой главы представлены нерешенные задачи в

рассматриваемой области исследований. Материал этой главы хорошо структурирован и характеризуется высокой степенью обобщения.

Во *второй главе* описаны реактивы и объекты исследования, приборная база и методы исследования.

Третья глава содержит полученные результаты и их обсуждение. Рассмотрены электрохимические системы на основе цитохрома Р450 для моделирования межлекарственных взаимодействий, способы повышения эффективности электрокатализа электрохимических систем на основе цитохрома Р450, а также иммобилизация цитохромов Р450 в трехмерные нанопоровые носители для повышения эффективности электрокатализа.

В *заключении* подведены итоги исследования и обозначены направления будущих работ. *Выводы* отражают основные результаты исследования и достижения автора.

Диссертация характеризуется логичностью построения. Каждая глава органично связана с остальными главами, что облегчает восприятие материала и способствует формированию целостной картины исследования.

Обоснованность научных положений и выводов, изложенных в диссертации, определяется большим объемом экспериментального материала, полученного с применением современных методов исследования (вольтамперометрия, спектрофотометрия, масс-спектрометрия, различные варианты микроскопии) на сертифицированном оборудовании. Результаты согласуются с литературными сведениями. Тем не менее, некоторые утверждения требуют дополнительного подтверждения в независимых исследованиях. Полученные метрологические характеристики свидетельствуют о достоверности представленных в диссертации результатов. Выводы полностью подтверждаются экспериментальными данными.

Результаты, представленные в диссертации, опубликованы в 15 рецензируемых научных журналах и представлены в виде тезисов в сборниках 12 профильных международных и всероссийских научных конференций.

Вышеотмеченное позволяет заключить, что полученные П.И. Королёвой результаты **являются достоверными**, а сделанные **выводы обоснованными**.

По диссертационной работе возникли **некоторые вопросы и замечания**.

1. Из представленных в разделах 3.1 и 3.2 данных непонятно с какой целью использован додецилдиметиламмоний бромид в составе биосенсоров и почему было выбрано именно это соединение? Какова его роль в составе модификатора

- электродной поверхности? Оказывает ли влияние его присутствие на регистрируемые сигналы биосенсоров?
2. С. 39 диссертации, каким образом закреплялась и удерживалась мембрана из анодного оксида алюминия на электродной поверхности?
 3. С. 46 диссертации, рис. 8, чем можно объяснить ярко выраженный и воспроизводимый выброс значения тока для 500 мкМ концентрации омепразола?
 4. Все разработанные сенсоры функционируют при pH 7.4. Как будет изменяться отклик сенсоров при переходе от модельных систем к реальным субстратам, например биологическим жидкостям, pH которых может сильно отличаться от вышеуказанного значения? Можно ли полученные при pH 7.4 данные о межлекарственных взаимодействиях применять к реальным системам, для которых характерны другие значения pH, лежащие в кислой или щелочной областях?
 5. Рис. 8, 10, 27, по оси X представлены равновесные концентрации соединений. Для хроноамперометрического анализа следовало указать молярные концентрации.
 6. С. 53, при создании сенсоров использованы СУР3А4 и флавины в соотношении 1:1. Чем обусловлен такой выбор соотношения? Существуют ли такие соотношения в живых системах?
 7. Каким образом учитывали электровосстановление кислорода в катодной области потенциалов в условиях аэробного эксперимента? Не происходит ли наложение пиков электровосстановления кислорода и цитохромов Р450?
 8. В работе не совсем корректно представлены часть данных. Так, для всех значений типа $5.9 \pm 1.1 \times 10^{-12}$ множитель следовало указать за скобкой, то есть $(5.9 \pm 1.1) \times 10^{-12}$, иначе получается, что стандартное отклонение средней величины составляет $n \times 10^{-12}$.
 9. В ряде результатов (С. 43, 44, 49, 52, 54, 55, 56, 58, 60, 62, 63, 67, 70, 73, 75, 78-80, 81) неверно указано число значащих цифр в средних значениях величин и стандартных отклонениях. Следует иметь в виду, что десятичные доли статистически незначимы относительно целых значений, сотые доли — относительно десятых долей и т.д.
 10. В работе достаточно часто встречаются неудачные фразы и термины, а также присутствуют опечатки и огрехи технического характера (например,

подписи должны располагаться на одной странице с рисунками).

Отмеченные замечания не снижают общую положительную оценку работы. Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Полины Игоревны Королёвой «Электрохимические цитохром Р450-системы для повышения эффективности каталитических процессов и анализа межлекарственных взаимодействий», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия, является научно-квалификационной работой, имеющей значение для развития биохимии ферментов, и отвечает всем требованиям, установленным в п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 (в редакциях с последующими изменениями), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Королёва Полина Игоревна, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

И.о. заведующего кафедрой аналитической химии

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

доктор химических наук, профессор

Зиятдинова Гузель Камилевна

Специальность 02.00.02 – Аналитическая химия

Почтовый адрес: 420008, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18

Тел.: +7 (843) 233-77-36

Адрес электронной почты: Guzel.Ziyatdinova@kpfu.ru

11 апреля 2025 г.

