

**Заключение диссертационного совета 24.1.172.01, созданного на базе
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени
В.Н. Ореховича», по диссертации на соискание ученой степени
кандидата наук**

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 15 мая 2025 г. № 5

О присуждении Королёвой Полине Игоревне, гражданке РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Электрохимические цитохром Р450-системы для повышения эффективности каталитических процессов и анализа межлекарственных взаимодействий» по специальности 1.5.4. Биохимия принята к защите 13 февраля 2025, протокол № 4, диссертационным советом 24.1.172.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения (ФГБНУ) «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, созданного Приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г. с внесением изменений Приказом Минобрнауки России № № 561/нк от 03 июня 2021 г. и Приказом Минобрнауки России № 1959/нк от 12 октября 2023 г.

Соискатель Королёва Полина Игоревна, 1996 года рождения.

В 2020 году соискатель окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования (ФГБОУ ВО) «МИРЭА – Российский технологический университет», по специальности химия. В 2024 году окончила очную аспирантуру по направлению подготовки 06.06.01 – Биологические науки при ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича». Работает младшим научным сотрудником в лаборатории биоэлектрохимии

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича». Диссертация выполнена в лаборатории биоэлектрохимии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор Шумянцева Виктория Васильевна, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией биоэлектрохимии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Официальные оппоненты:

Козин Сергей Александрович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, главный научный сотрудник лаборатории конформационного полиморфизма белков в норме и патологии;

Зиятдинова Гузель Камилевна, доктор химических наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования (ФГАОУ ВО) «Казанский (Приволжский) федеральный университет», профессор кафедры аналитической химии;

ведущая организация – ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», гор. Москва, в своём положительном заключении, подписанном доктором биологических наук, профессором кафедры биохимии имени Т.Т. Березова Медицинского института РУДН Лукашевой Еленой Васильевной, отметила некоторые замечания, касающиеся оформления рисунков 8 и 10, перегруженности выводов цифровыми характеристиками, полученными в ходе работы, а также поставила ряд вопросов. Однако указанные замечания и поставленные вопросы не умаляют значимости проведенного исследования.

Соискатель имеет 29 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 27 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях - 15.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Koroleva P.I., Kuzikov A.V., Gilep A.A. , Bulko T.V., Shumyantseva V.V., Electrochemical Assessment of CYP3A4 Catalytic Activity in Bactosomes // BioNanoScience – 2024 – V. 14. – P. 2930-2939 (Q3, IF 3.0, K1) 1,155 условных печатных листов.

В работе представлены результаты исследования бактосом, содержащих человеческий цитохром P450 3A4, в сравнении с рекомбинантным ферментом. Бактосомы оказались эффективными биореакторами в случае электроэнзиматических реакций метаболизма лекарственных средств. Соискатель проводил все электрохимические и спектральные эксперименты, обрабатывал полученные результаты, участвовал во всех этапах подготовки статьи к печати.

2. Shumyantseva V.V., Koroleva P.I., Bulko T.V., Shkel T.V., Gilep A.A., Veselovsky A.V., Approaches for increasing the electrocatalytic efficiency of cytochrome P450 3A4// Bioelectrochemistry – 2023 – V. 149 - 108277 (Q2, IF 4.8, K1) 0,924 условных печатных листов.

В работе предложены подходы для повышения эффективности электрокатализа цитохрома P450 3A4, основанные на моделировании природного каталитического цикла гемопротейна и путей переноса электронов на электроде. Соискатель проводил все электрохимические и спектральные эксперименты, обрабатывал полученные результаты, участвовал во всех этапах подготовки статьи к печати.

3. Koroleva P.I., Gilep A.A., Kraevsky S.V., Tsybruk T.V., Shumyantseva V.V., Improving the Efficiency of Electrocatalysis of Cytochrome P450 3A4 by Modifying the Electrode with Membrane Protein Streptolysin O for Studying the Metabolic Transformations of Drugs// Biosensors – 2023 – V. 13 – Iss. 4 - 457 (Q1, IF 4.9, K1) 1,386 условных печатных листов.

В данной работе печатные графитовые электроды (ПГЭ) были модифицированы синтетическим поверхностно-активным веществом ДДАБ и стрептолизин О (СЛО) и цитохромом P450 3A4 (CYP3A4) для

наблюдения явлений прямого переноса электрона и биоэлектrokатализа фермента. Включение СУР3А4 в белковую структуру СЛО ускорило ферментативную реакцию. По данным показала атомно-силовой микроскопии, ПГЭ/ДДАБ/СЛО обладал более развитой поверхностью с белковыми полостями по сравнению с ПГЭ/ДДАБ для эффективной иммобилизации фермента СУР3А4. Соискатель проводил все электрохимические и спектральные эксперименты, обрабатывал полученные результаты, участвовал во всех этапах подготовки статьи к печати.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

официального оппонента Козина Сергея Александровича, доктора биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, главного научного сотрудника лаборатории конформационного полиморфизма белков в норме и патологии, в котором спрашивается, чем обусловлен выбор именно двух изоформ цитохрома Р450 3А4 и Р450 2С9 из имеющихся в организме человека 57 изоформ. В качестве замечаний отмечается, что в работе предполагается, что разработанные методики для увеличения эффективности электрокатализа цитохромов Р450, однако в работе уделено мало внимания масштабированию данного процесса до производственных объемов; указано также на наличие стилистических и технических погрешностей. Представленные вопросы и замечания не умаляют значимости проведенного исследования;

официального оппонента Зиятдиновой Гузель Камилевны, доктора химических наук, профессора ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», профессора кафедры аналитической химии, в котором есть некоторые замечания и вопросы. Так, отмечается, что не совсем корректно представлена часть данных, например, для всех значений типа $5.9 \pm 1.1 \times 10^{-12}$ множитель следует указывать за скобкой, т.е. $(5.9 \pm 1.1) \times 10^{-12}$; в ряде результатов неверно указано число значащих цифр в средних значениях величин и стандартных отклонениях; часто встречаются неудачные фразы и

термины, а также имеются опечатки и технические огрехи (подрисуночные подписи должны располагаться на одной странице с рисунком). Указанные замечания и поставленные вопросы не снижают общую положительную оценку работы.

В положительном отзыве на автореферат кандидата биологических наук, научного сотрудника лаборатории генной инженерии Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства» Бобровского Павла Александровича отмечается наличие в автореферате ряда опечаток и стилистических ошибок, а также неочевидность из текста автореферата фразы в выводе 1 фразы об «*in vitro* моделировании антихеликобактерной терапии». Представленные замечания не умаляют достоинств выполненной работы, а высокий уровень проведенного исследования и обоснованность сделанных выводов не вызывают сомнений.

В положительном отзыве на автореферат доктора химических наук, профессора кафедры химической энзимологии Химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Кудряшовой Елены Вадимовны имеются некоторые замечания. Так, в автореферате не объясняется цель использования и преимущества использования бактосом, а также не обсуждается состав, свойства и способ получения бактосом, не хватает разнообразия методов исследования, а в основном обсуждаются параметры электроферментативных реакций, катализируемых цитохромом P450 3A4, отсутствует обсуждение в части сравнения результатов, полученных другими методами. Указанные замечания не уменьшают значимость данной работы.

В положительном отзыве на автореферат доктора биологических наук, заведующего лабораторией разработки молекулярных диагностических систем Отдела молекулярной биологии вирусов ФГБУ «НИИ гриппа им.

А.А. Смородинцева» Минздрава России Соколова Алексея Викторовича, замечаний нет.

В положительном отзыве на автореферат кандидата биологических наук, руководителя лаборатории клинико-диагностической и санитарной микробиологии ООО «АГРОПЛЕМ» Мещерской Екатерины Викторовны, отмечается, что в тексте автореферата ряд данных представлен в виде $9,21 \pm 1,7 \times 10^{-11}$ вместо правильного формата $(9,21 \pm 1,7) \times 10^{-11}$; встречаются опечатки и стилистические ошибки. Указанные замечания не уменьшают значимость данной работы.

В положительном отзыве на автореферат доктора химических наук, профессора, заведующего лабораторией иммунобиохимии ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН) Дзантиева Бориса Борисовича замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован тем, что доктор биологических наук Козин Сергей Александрович является ведущим специалистом в области биохимии и молекулярной биологии белков человека и молекулярных механизмов развития заболеваний, доктор химических наук Зиятдинова Гузель Камилевна – известный специалист в области электрохимических методов анализа и электрохимических сенсорных систем.

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (кафедра биохимии имени академика Т.Т. Березова) – является ведущим центром по изучению механизмов развития онкологических заболеваний и биотрансформации лекарственных препаратов в организме человека.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- впервые изучено образование на электроде фермент-субстратного комплекса как предшествующей стадии восстановления цитохрома P450 и

показано, что формирование комплекса повышает эффективность протекания электродной реакции с участием фермента;

- впервые создана модельная система для исследования межлекарственных взаимодействий, возникающих между лекарственными веществами при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта, вызванных *Helicobacter pilory*;

- впервые предложены новые способы модификации электродной поверхности с использованием анодного оксида алюминия с регулярной нанопористой структурой, а также мембрана-дестабилизирующего белка стрептолизина О.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что, разработка и создание электрохимических ферментных цитохром Р450-биосенсоров для лекарственных препаратов и создание систем биотрансформации биологически активных соединений способствует дальнейшему развитию исследований и продвижению в разработке и характеристике электрохимических биосенсорных систем.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики состоит в том, разработанные соискателем электрохимические биосенсорные системы на основе цитохромов Р450 с улучшенными аналитическими характеристиками биокаталитических превращений могут быть использованы для исследования межлекарственных взаимодействий и оценки субстратных или ингибиторных свойств уже известных и потенциальных лекарственных препаратов в отношении изоформ цитохрома Р450, а также детекции токсических соединений в различных средах.

Оценка достоверности результатов исследования подтверждается тем, что диссертантом использованы современное высокоточное оборудование и материалы ведущих мировых производителей, а основные результаты исследования опубликованы в рецензируемых научных журналах и доложены на всероссийских и международных конференциях.

Личный вклад соискателя состоит в подготовке обзора литературы по теме исследования, в планировании и постановке экспериментов, выполнении всей электрохимической части исследования, обработке результатов экспериментов и статистической обработке полученных данных. Представленные в диссертационной работе результаты исследований получены либо лично соискателем, либо при его непосредственном участии.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний.

На заседании 15 мая 2025 г. диссертационный совет принял решение присудить Королёвой Полине Игоревне учёную степень кандидата биологических наук за разработку электрохимических систем на основе цитохромов P450, позволяющих создавать платформы для скрининга субстратов и ингибиторов, использоваться в области фармакокинетики лекарственных веществ, токсикологии и персонализированной медицины для снижения рисков побочных эффектов и повышения эффективности терапии.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.4. Биохимия, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 17, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Зам. председателя Диссертационного совета
д.б.н., профессор, чл.-корр. РАН



Поройков В.В.

Ученый секретарь Диссертационного совета
к.х.н.



Карпова Е.А.

15 мая 2025 года