



ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ»  
(ФГБНУ «ИЭМ»)

ул. Академика Павлова, 12, Санкт-Петербург, 197376  
телефон: +7 (812) 234-6868, факс: +7 (812) 234-9489, e-mail: iem@iemrams.ru

ОКПО 01897179 ОГРН 1037828000198 ИНН/КПП 7813045787/781301001

24.05.2018 № 557-1/8-314

на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_


УТВЕРЖДАЮ

Директор

Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения

«Институт экспериментальной медицины»  
доктор биологических наук, профессор РАН



  
«24» мая 2018 г.

А.В. Дмитриев

## ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» о научно-практической значимости диссертационной работы Шмурака Владимира Игоревича на соискание ученой степени кандидата биологических наук, выполненной на тему «Сравнительный анализ связывающей и эстеразной активности сывороточного альбумина человека, быка и крысы» по специальности 03.01.04 – биохимия.

### Актуальность темы

Сывороточный альбумин является одним из наиболее изученных белков крови млекопитающих. Первичная структура и пространственная конфигурация альбумина полностью расшифрованы, идентифицированы центры связывания лигандов и жирных кислот. Несмотря на значительные успехи, интерес исследователей к этому белку не ослабевает. Это обусловлено чрезвычайной важностью функций, которые выполняет

альбумин, осуществляя депонирование и транспорт лигандов различной природы. В связи с этим молекулярные аспекты взаимодействий лигандов с альбумином неизменно находятся в поле зрения специалистов, занимающихся проблемами фармако- и токсикокинетики.

Помимо способности связывать различные лиганды, альбумин обладает эстеразной (псевдоэстеразной) активностью, которая менее изучена, по сравнению со связывающей способностью белка. Между тем, эстеразная активность альбумина важна для оценки параметров фармакокинетики ряда лекарственных веществ, и особенно токсикокинетики фосфорорганических соединений.

Несмотря на консервативность молекулы альбумина, структура этого белка у человека, у быка и у крысы имеет ряд особенностей. Как известно, крысы являются наиболее распространенным объектом медико-биологических исследований. В экспериментах *in vitro* при изучении взаимодействий лигандов с альбумином часто используется сывороточный альбумин быка. Межвидовые различия могут иметь чрезвычайно важное значение с точки зрения экстраполяции с животных на человека результатов фармако- и токсикокинетики, полученных в экспериментальных и доклинических исследованиях.

В связи с этим, актуальность темы диссертационной работы Шмурака Владимира Игоревича не вызывает сомнений, поскольку исследование имеет целью сравнительный анализ связывающей способности и эстеразной активности альбумина трех видов млекопитающих (человека, быка и крысы), наиболее актуальных с точки зрения фармако- и токсикокинетического анализа.

#### **Обоснованность и достоверность результатов исследования**

Высокая степень достоверности положений, заключений и выводов рецензируемой диссертационной работы обеспечена:

- применением современных и прецизионных методов анализа;

- использованием передовых мировых разработок в области молекулярного моделирования, адекватным их приложением к решению поставленных задач;
- использованием большого массива данных, полученных из всемирных специализированных баз данных;
- высокой сходимостью результатов, полученных расчетными методами с использованием разработанных моделей, с данными, полученными экспериментальным путем;
- применением современных методов статистического анализа результатов наблюдений;
- использованием лицензионного программного обеспечения.

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

Основные положения диссертации логично вытекают из полученных данных и подкрепляются фактическим материалом исследования. Обоснованность положений, выносимых на защиту, и выводов диссертации базируется на большом объеме исследований с использованием современного методического (биохимического) арсенала анализа кинетических характеристик, современной инструментрии молекулярного моделирования *in silico*, использующего большой набор расчетных комбинаций лигандов с активными сайтами альбумина.

### **Научная новизна**

Впервые в рамках одного исследования проведен сравнительный анализ структуры и функциональной активности трех видов альбумина, наиболее актуальных при проведении экспериментальных и доклинических исследований в области фармако- и токсикокинетики. Получены сравнительные кинетические параметры скоростей гидролиза при взаимодействии *n*-нитрофенилацетата и параоксона с сайтом Садлоу I молекул альбумина сыворотки человека, быка и крысы.



Определены константы диссоциации и проведен анализ реципрокного влияния основных сайтов альбумина при взаимодействии с негидролизуемыми лигандами (варфарин, ибупрофен). Методами молекулярного моделирования впервые изучены процессы взаимодействия альбумина с *n*-нитрофенилацетатом, параоксоном, стереоизомерами зомана, специфическими ингибиторами сайтов Садлоу I и II.

Установлено, что высокотоксичные Р(-) изомеры зомана при взаимодействии с сайтом Садлоу I альбумина человека могут взаимодействовать не только с аминокислотными остатками Tyr150 и Tyr411, но и с остатками Ser193 и Lys402.

Предложена математическая модель для описания эстеразной активности альбумина, полученная на основании биохимического анализа в сочетании с молекулярным моделированием функционирования двух сайтов альбумина *in silico*.

### **Значимость полученных автором диссертации результатов для развития соответствующей отрасли наук**

Обнаруженные сходства и различия альбумина разных видов животных позволят более адекватно подходить к выбору экспериментальных моделей для изучения фармако- и токсикокинетики, а также к интерпретации полученных данных.

Автором установлено, что функциональные характеристики сайтов Садлоу I и II альбумина крысы более близки соответствующим характеристикам альбумина человека. Те же характеристики альбумина быка существенно отличаются от характеристик альбумина человека. Основываясь на этих данных, автор рекомендует в экспериментальных моделях *in vitro* использовать именно сывороточный альбумин человека, а не более дешевый и доступный сывороточный альбумин быка.

Учитывая наличие карбоксилэстеразы в плазме крови грызунов, в моделях *in vitro* и *in vivo* с грызунами необходимо использовать ингибиторы карбоксилэстераз.

Предложенная математическая модель для описания эстеразной активности альбумина важна для развития методологии доклинических исследований фармпрепаратов. Сочетание методов теоретической и экспериментальной оценки (псевдо)эстеразной активности альбумина будет способствовать направленному поиску новых лигандов направленного действия на определенные сайты или молекулу альбумина в целом, что будет повышать эффективность разработки новых лекарственных препаратов и средств антидотной терапии отравлений токсичными химическими веществами.

### **Структура и содержание диссертации**

Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста и построена по традиционному плану: включает в себя «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы». Материал диссертации хорошо проиллюстрирован 40 рисунками, 26 таблицами. Список цитированной литературы включает 208 источников, из них 10 – отечественные, 198 – зарубежные.

В литературном обзоре автор показал прекрасное знание литературы, в том числе передовых зарубежных разработок, а также критический подход к анализируемым материалам. Из проведенного анализа состояния исследуемой проблемы и существующих подходов к ее разработке логично вытекают цель и задачи исследования.

Изложение собственного материала хорошо структурировано и логично выстроено, иллюстрируется достаточным количеством таблиц и графиков, дающих исчерпывающее представление об объеме исследования и о характере полученных результатов.

Следует отметить, что в экспериментальных главах, помимо получения массива данных, характеризующих тот или иной аспект исследуемого взаимодействия, автором решались задачи методического характера. Все

этапы анализа подробно иллюстрируются, что дает возможность использования методологии другими авторами.

Выводы и положения, выносимые на защиту, а также практические рекомендации логически следуют из полученных результатов. Они научно обоснованы и опираются на большой объем фактического материала и его разносторонний анализ.

Автореферат отражает наиболее значимые результаты исследования. Основные результаты диссертационной работы отражены в 15 научных публикациях автора, среди них – 10 статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ для опубликования основных материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

#### **Рекомендации по использованию полученных результатов**

Результаты, представленные в диссертации В.И. Шмурака, могут быть использованы в работе учреждений, занимающихся разработкой лекарственных средств, а также вопросами химической безопасности при оценке параметров фармакокинетики лекарств и токсикокинетики токсичных химических веществ. К таким учреждениям можно отнести НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН, Военно-медицинскую академию имени С.М. Кирова, Институт экспериментальной медицины, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова, Институт токсикологии ФМБА России, ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ.

Результаты теоретических и практических разработок автора целесообразно включить в программы преподавания курсов биофизики, биохимии, фармакологии и токсикологии, а также ряда циклов, посвященных оценке фармако- и токсикокинетики.



**Соответствие диссертации критериям, установленным  
Положением о присуждении ученых степеней**

Диссертация В.И. Шмурака полностью соответствует критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, поскольку содержит решение задачи, имеющей важное значение для развития теоретических представлений о механизмах взаимодействия лигандов с альбумином разных видов млекопитающих, что играет существенную роль при оценке параметров фармакокинетики существующих и вновь создаваемых лекарственных средств, а также токсикокинетики токсичных химических веществ.

Работа соответствует специальности 03.01.04 – биохимия, поскольку направлена на изучение строения, свойств и функционирования отдельных молекул в биологических объектах, оценку термодинамических, квантово-механических и кинетических параметров функционирования биологических молекул, с использованием компьютерного моделирования пространственной структуры биополимеров, методов молекулярной динамики, современных биохимических методов и математического аппарата.

**Замечания и вопросы**

Диссертационная работа В.И. Шмурака написана хорошим научным языком, представляет собой логичное цельное исследование, выполненное на современном инструментальном и информационном уровне, по результатам которого сформулированы важные в научном и практическом аспекте выводы.

Принципиальных замечаний по диссертации нет. Вместе с тем, хотелось бы задать автору ряд вопросов:

1. Как соотносится эстеразная активность альбумина с активностью других эстераз, например холинэстераз?

2. Насколько значима эстеразная активность альбумина для фармако- и токсикокинетики? Для каких соединений это будет иметь наиболее существенное значение?

3. Результаты, полученные в диссертации, свидетельствуют, что сывороточный альбумин крысы наиболее близок к сывороточному альбумину человека. Между тем, в экспериментальных исследованиях часто используется сывороточный альбумин быка. Можно полагать, что эта практика будет продолжаться. Какие рекомендации Вы можете дать по экстраполяции на человека результатов, полученных при оценке связывающей способности альбумина в опытах с сывороточным альбумином быка?

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Шмурака Владимира Игоревича на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему «Сравнительный анализ связывающей и эстеразной активности сывороточного альбумина человека, быка и крысы» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение задач, актуальных для современной фармакологии и токсикологии. Разработанные подходы к оценке взаимодействий лигандов с альбумином с учетом эстеразной активности белка при оценке фармако- и токсикокинетики будут способствовать разработке рациональной фармакотерапии, оптимизации процесса создания новых лекарственных средств, а также позволит снизить затратность и повысить эффективность таких разработок.

По актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных данных представленная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Шмурак Владимир Игоревич, заслуживает присуждения искомой



