

УТВЕРЖДАЮ

И.о. директора Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института химической кинетики и горения
им. В.В. Воеводского Сибирского отделения
Российской академии наук (ИХКГ СО РАН)

А.А. Онищук

12 2024 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук на диссертационную работу Хайбрахмановой Диляры Раисовны «Термодинамика взаимодействий низкомолекулярных органических лигандов с альбумином», представленную к защите на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия

Взаимодействие молекул лекарств с белками плазмы крови, прежде всего с альбумином, существенным образом определяет их фармакологические характеристики, оказывая влияние на абсорбцию, распределение лекарства в организме, метаболизм, а также выделение и токсичность. Изучение этих вопросов имеет большое значение для медицины, однако для надежного измерения констант связывания требуются подходы физической химии. Только на основе методик, дающих воспроизводимые данные и надежные значения констант связывания молекул лекарства (лигандов) с белками плазмы, можно делать предсказания и выводы о воздействии изучаемых препаратов на организм. Диссертационная работа Хайбрахмановой Д.Р. представляет исследование, направленное на разработку и применение таких методик. В ней проведен критический анализ экспериментальных и теоретических подходов к

изучению белок-лигандных взаимодействий, предлагаются и апробируются новые методики, а полученные данные об аффинности различных низкомолекулярных органических лигандов к альбумину позволяют объяснить их влияние на агрегационную устойчивость белка. Эта работа безусловно **актуальна** для данной области, где объекты исследования являются весьма сложными, и в литературе имеется много недостоверных данных о константах устойчивости и аффинности.

Диссертационная работа Хайбрахмановой Д.Р. изложена на 151 странице и состоит из введения, трех глав, заключения и списка литературы из 194 наименований, включает 4 таблицы и 62 рисунка.

Во введении диссертации обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи, обозначены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, представлены положения, выносимые на защиту, методология и методы исследования, личный вклад автора, информация об апробации и публикации результатов.

Первая глава представляет собой литературный обзор, состоящий из трех частей. В первой части приведены общие сведения о человеческом и бычьем альбуминах в сыворотке крови, сопоставлены их структуры, подробно обсуждаются центры связывания альбуминов с лигандами. Во второй части проводится критический анализ различных экспериментальных методов определения констант связывания низкомолекулярных лигандов с альбуминами и другими белками. В третьей части обсуждаются основные теоретические подходы, использованные ранее для расчета констант связывания.

Вторая глава посвящена описанию использованных в работе экспериментальных методов. В ней описываются оборудование, объекты, методы и методики исследования. Подробно обсуждаются экспериментальные методики определения констант связывания методами дифференциальной сканирующей калориметрии, спектрофлуориметрии, а также методы изучения кинетики фибриллообразования альбумина.

Третья глава диссертации посвящена обсуждению полученных результатов экспериментальных и теоретических исследований. Она состоит из шести частей.

В первой части приводится описание базы данных констант связывания низкомолекулярных лигандов с альбуминами млекопитающих, собранной из литературных данных. Отмечается, что значения констант связывания для одних и тех же систем, приведенные в разных источниках или полученные разными методами, могут отличаться на несколько порядков. Это говорит о сложности исследуемой проблемы, что указывает на необходимость разработки новых экспериментальных методов и подходов для получения достоверных и воспроизводимых величин.

Во второй части предлагается методика определения констант связывания с использованием метода дифференциальной сканирующей калориметрии, приводится ее описание и апробация. Обсуждаются результаты для различных лекарственных соединений, приводятся значения констант связывания, определённых на основе калориметрических кривых.

В третьей части приводятся константы связывания замещенных бензойных кислот с бычьим сывороточным альбумином, определенные с помощью метода тушения флуоресценции. Найдена их корреляция с параметрами Гаммета, QSAR-корреляции с молекулярными дескрипторами. Указано на сильное влияние электростатических взаимодействий на величину константы связывания.

В четвертой части проводится анализ возможности применения метода молекулярного докинга для предсказания положения лиганда в центрах связывания альбумина и величины аффинности. Показано, что метод позволяет во многих случаях достоверно предсказывать конформацию лиганда в полости центра связывания, однако неприменим для оценки констант связывания.

В пятой части проводится поиск корреляций между константами связывания и различными наборами молекулярных дескрипторов. Показано, что возможно приемлемое описание набора значений $\log K$ для 320 различных

соединений, полученных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В шестой части на основе полученных данных изучается агрегационная устойчивость альбумина. Показано, что эффективность подавления роста амилоидных фибрилл альбумина зависит только от содержания денатурированной формы белка при температуре образования фибрилл. Установлено, что снижение выхода и скорости фибриллообразования достигается за счет смещения равновесий между нативной и денатурированной формой в процессе связывания белка с лигандом.

В заключении сформулированы основные выводы диссертационной работы.

Диссертационная работы Хайбрахмановой Д.Р. содержит новые и важные результаты, имеющие научное и практическое значение. **Научную новизну** работы представляют: предложенная методика определения констант связывания белков с лигандами с использованием данных дифференциальной сканирующей калориметрии; найденные соотношения типа структура-свойство для констант связывания низкомолекулярных органических соединений с альбумином на основе линейных корреляций с дескрипторами лигандов; величины констант связывания анионов замещенных бензойных кислот в зависимости от их природы; выводы о том, что данные, полученные с помощью молекулярного докинга, оказываются недостаточными для предсказания аффинности данного лиганда к альбумину. Следует также отметить обнаруженный факт, что выход и начальная скорость фибриллообразования альбумина в присутствии лигандов с различными константами связывания и разной концентрацией зависит только от равновесной доли денатурированного белка. Разработанные экспериментальные методики и установленные корреляционные соотношения для прогнозирования констант взаимодействия альбумина с лекарственными молекулами различной структуры представляют **практическую значимость** диссертационной работы Хайбрахмановой Д.Р. Они могут быть использованы для оценки доли связанного препарата в плазме крови.

Поскольку альбумин является основным транспортным белком сыворотки крови, то это важно при разработке новых лекарственных соединений. Результаты исследования влияния различных лигандов на подавление роста фибрилл белков могут быть применены для объяснения агрегационной устойчивости белка, что важно для поиска путей лечения нейродегенеративных заболеваний, неизлечимых в настоящее время. Данные о закономерностях ингибирования образования амилоидных фибрилл могут служить фундаментальной основой для разработки антиамилоидных терапевтических препаратов. **Достоверность** полученных результатов подтверждается использованием в диссертационной работе отлаженных экспериментальных методов, современного оборудования, известных расчетных методик. Также о достоверности и научной значимости говорит то, что основные результаты диссертации опубликованы в рецензируемых высокорейтинговых международных журналах.

Диссертационная работа Хайбрахмановой Д.Р. представляет собой большой и содержательный труд, включающий в себя широкий спектр экспериментальных исследований, использующих дифференциальную сканирующую калориметрию, флуоресцентную спектроскопию, УФ-спектрофотометрию, спектроскопию кругового дихроизма, а также метод молекулярного докинга. Текст диссертации и автореферата написан понятным научным языком. Можно дискутировать о форме представления результатов в главе 3. Это одна большая глава, состоящая из шести отдельных частей существенно различающихся по содержанию. Казалось бы, лучше было бы представлять их в разных главах. Например, логично иметь главу, посвященную обсуждению собственно констант связывания (части 3.1, 3.2 и 3.3), а для молекулярного докинга, связи структуры с аффинностью и фибриллообразованием завести отдельную главу, или даже две. Однако это всего лишь пожелание.

По диссертационной работе можно сделать следующие **замечания**, по которым хотелось бы, чтобы автор высказала свое мнение.

1. Несмотря на большое сходство структур человеческого и бычьего альбумина, между ними имеются известные различия. Следует ли ожидать, что обсуждаемые лиганды, эффективно ингибирующие амилоидообразование бычьего альбумина, будут также эффективны против агрегации человеческого альбумина? Насколько выводы, делаемые на основе исследования бычьего альбумина, переносимы на человеческий в плане терапии?

2. В работе отмечается существенная зависимость констант связывания от условий эксперимента (рН, ионная сила, концентрация) и говорится о необходимости унификации этих условий для получения надежных данных. Однако в диссертации нет рекомендаций о том, какие условия лучше всего выбрать. Можно ли дать конкретные рекомендации, что использовать в качестве стандарта в рассмотренных случаях?

3. В работе упоминается множество моделей, полученных для описания данных по величинам $\log K$ с помощью различных наборов дескрипторов и методов. Однако в диссертации не приведены результаты их статистической обработки.

Высказанные замечания не снижают научной значимости и ценности диссертации и не влияют на общую положительную оценку результатов работы.

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям и выводам диссертационной работы. Результаты были апробированы на всероссийских и международных конференциях, опубликованы в 5 статьях в журналах, входящих в базы данных Scopus и Web of Science, в 7 тезисах докладов.

Полученные результаты и выводы могут представлять интерес для исследователей, работающих в области физической и биофизической химии, и могут быть использованы в следующих организациях: Институте химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова, Санкт-Петербургском государственном университете, Новосибирском государственном университете, Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН.

Диссертационная работа Хайбрахмановой Д.Р. «Термодинамика взаимодействий низкомолекулярных органических лигандов с альбумином», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия, является законченным научным исследованием, посвященным актуальной научной тематике – исследованию термодинамики взаимодействий низкомолекулярных лигандов с сывороточным альбумином. Диссертационная работа соответствует специальности 1.4.4. Физическая химия, а именно следующим пунктам паспорта специальности:

П. 2 «Экспериментальное определение термодинамических свойств веществ, расчет термодинамических функций простых и сложных систем, в том числе на основе методов статистической термодинамики, изучение термодинамики фазовых превращений и фазовых переходов»;

П. 10 «Создание и разработка методов компьютерного моделирования строения и механизмов превращений химических соединений на основе представлений квантовой механики, различных топологических и статистических методов, включая методы машинного обучения, методов молекулярной механики и молекулярной динамики, а также подходов типа структура-свойства».

По актуальности, научной и практической значимости, научной новизне, достоверности полученных результатов и объему выполненных исследований диссертационная работа Хайбрахмановой Д.Р. соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, а ее автор, Хайбрахманова Диляра Раисовна, заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.4.4. Физическая химия.

Отзыв обсужден на заседании семинара № 662 лаборатории Молекулярной Динамики и Структуры ИХКГ СО РАН (протокол № 1 от 11.01.2024г.).

Отзыв подготовили доктор физико-математических наук (специальность 05.13.16 – применение вычислительной техники, математического моделирования и математических методов в научных исследованиях), заведующий лабораторией

Молекулярной Динамики и Структуры Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук - Николай Николаевич Медведев и кандидат физико-математических наук (специальность 01.04.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества), научный сотрудник той же лаборатории - Алексей Владимирович Аникеенко.

Д.ф.-м.н.

Медведев Н.Н.

11.01.2024

тел. 8(383)3302854, +7 (923) 2461160

email: nikmed@kinetics.nsc.ru

Должность: заведующий лабораторией

Адрес организации:

Институтская ул., д.3, Новосибирск, 630090, Россия.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт химической кинетики и горения

им. В.В. Воеводского Сибирского отделения

Российской академии наук (ИХКГ СО РАН)

Тел. 8(383) 330 91 50, 8(383) 3307350.

E-mail: admin@kinetics.nsc.ru

К.ф.-м.н.

Аникеенко А.В.

11.01.2024

тел. 8(383)3302854,

email: anik@kinetics.nsc.ru

Должность: научный сотрудник

Адрес организации:

Институтская ул., д.3, Новосибирск, 630090, Россия.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт химической кинетики и горения

им. В.В. Воеводского Сибирского отделения

Российской академии наук (ИХКГ СО РАН)

Тел. 8(383) 330 91 50, 8(383) 3307350.

E-mail: admin@kinetics.nsc.ru

