

Отзыв

**На автореферат диссертационной работы Пустюльга Е.С.
«Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и создание на их
основе новых биоспецифических сорбентов для связывания
иммуноглобулинов класса G» на соискание учёной степени кандидата
химических наук по специальности 02-00-10-биоорганическая химия**

В настоящее время во всём мире развиваются заболевания, связанные с аутоиммунными заболеваниями. Использование в лечении этих болезней с использованием фармакотерапевтических систем, таких как иммуномодуляторы и иммуносупрессанты не всегда приносят ожидаемые результаты. Использование при лечении подобных заболеваний методов плазмафера и гемосорбции, позволило бы оптимизировать лечение больных этим аутоиммунными патологиями.

На сегодня при лечении этих заболеваний применяются ограниченное число IgG-сорбентов, на основе различных активных лигандов, которым присущи недостатки такие, как высокая стоимость, сложная технология их производства, наличие побочных действий.

Учитывая, вышеизложенное в работе осуществлён поиск новых сорбентов, имеющие высокую селективность и несложную технологию их производства и в последствии не высокую их стоимость.

В диссертационной работе методом молекулярного докинга и пептидного синтеза показана возможность перспективных лигандов, и на их основе созданы новые сорбенты.

Методом In-vitro исследований показана высокая аффинность идентифицированных молекул, высокая сорбционная их ёмкость и селективность по отношению G иммуноглобулинов и низкая селективность к другим белкам плазмы крови.

Целью исследований автора диссертации был синтез новых олигопептидов и создание на их основе биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G из биологических жидкостей.

Объектами исследования были лиганды, имеющие высокую степень средства к иммуноглобулинам класса G и синтезированные образцы новых сорбентов, полученные на их основе.

Научная новизна диссертационной работы заключалась в установлении закономерностей функциональных свойств лигандов, состоящих из трёх аминокислотных остатков для связывания иммуноглобулинов класса G и его подклассов.

Личный вклад автора диссертации заключалась в систематизации и анализе научной и патентной литературы по теме работы, в получении и анализе состава, полученных сорбентов, в проведении теоретических и экспериментальных исследований.

По материалам исследований автором опубликованы 14 работ, из них 4 статьи, 5 статей в сборниках конференций. По результатам исследований получен 1 патент.

Автореферат изложен на 21 страницах и состоит из 5 глав, где коротко изложены результаты диссертации.

Все результаты, изложенные в автореферате отражены в опубликованных научных статьях автора.

В заключении автореферата, изложены основные обобщённые результаты исследований и рекомендации по практическому использованию результатов диссертационной работы на практике.

В целом диссертационная работа и её результаты, отражённые в автореферате, являются законченным исследованием, который представляет большой научный и практический интерес. Опубликованные статьи отражают все главы диссертации и автореферата.

Как любая диссертационная работа она имеет некоторые неточности, грамматические и стилистические ошибки.

В частности, на обложке автореферата «Минск, 2022», хотя защита диссертации состоится 28 июня 2023 года.

Также, в качестве пожелания было-бы желательным отразить в диссертации основные виды сырья и материалов, их доступность, принципиальную технологическую схему производства сорбентов и сопоставительные данные по известным используемым сорбентам на практике.

В целом диссертационная работа Пустюльга Егора Сергеевича, является законным исследованием, где фундаментальные и прикладные аспекты работы отражены и научно обоснованы.

Данная работа может быть представлена в Специализированный совет по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02-00-10-биорганическая химия.

Доктор технических наук, профессор,
заместитель директора Института
химии и физики полимеров АН РУз
по научной работе и инновации



Сарымсаков А.А.

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ
диссертации
Пустюльга Егора Сергеевича

«Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и создание на их основе новых биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G»,

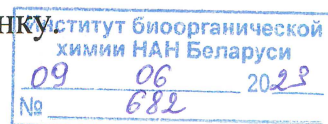
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.10 – биорганическая химия

Диссертация Пустюльга Е.С. посвящена актуальному вопросу иммунологии и клинической биохимии — созданию новых высокоспецифических биосорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G, так как в патогенезе аутоиммунных заболеваний критическая роль принадлежит избыточной продукции этих иммуноглобулинов, основных представителей иммуноглобулинов крови, включающих подклассы IgG (1–4), что обусловлено гиперстимуляцией различных клонов плазматических клеток. Недостаточная эффективность иммуномодуляторов или иммуносупрессантов, например, при ревматоидном артрите, миеломной болезни, рассеянном склерозе диктуют необходимость гормонотерапия, в ряде случаев не преодолевающей лекарственную устойчивость и порождающей осложнения. В этой связи применение плазмафереза и гомосорбции являются альтернативными методами патогенетического лечения, которое может быть оптимизировано разработкой IgG-сорбентов.

В работе применен комплексный метод создания сорбционных лигандов на основе молекулярного докинга и пептидного синтеза. Идентифицированы и получены новые потенциальные лиганды на основе ди- и трипептидов, содержащих ароматические аминокислоты с высоким сродством к Fc-фрагментам подкласса IgG. Синтезированные лиганды и матрицы в виде активированных полиэтиленовых гранул применены для избирательного связывания IgG и их подклассов, доказана их селективность, высокая сорбционная ёмкость. Обоснована рекомендация расширенного применения новых образцов сорбентов в клинической медицине и биотехнологиях. Приоритетность разработки и возможность широкого внедрения в клиническую практику подтверждается наличием патента на изобретение (патент РБ 23532).

По материалам исследования сделаны 9 научных сообщений, опубликовано 9 статей, в т.ч. 4 статьи в журналах и сборниках научных работ, входящих в перечень, рекомендованный Высшей аттестационной комиссией Республики Беларусь для публикации результатов диссертационных исследований.

Диссертант неоднократно выступал с сообщениями о результатах исследований на научных конференциях и симпозиумах, в том числе и в Институте биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, на которых работа и исполнитель получили положительную оценку.



Таким образом, можно сделать заключение, что автором получены новые оригинальные результаты, которые имеют научную и практическую значимость. Диссертационная работа Пустюльга Е.С. соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, а сам соискатель заслуживает присвоения искомой степени.

Главный научный сотрудник

ГП «Институт биохимии биологически
активных соединений НАН Беларуси»,
профессор, доктор биологических наук

Н.П. Канунникова

Зав. отраслевой лабораторией,
кандидат медицинских наук

Е.П. Лукиенко



Личную подпись

Отдостоверяю:

Старший инспектор по кадрам

20 23

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Пустюльги Егора Сергеевича
«Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и
создание на их основе новых биоспецифических сорбентов
для связывания иммуноглобулинов класса G»,
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Спектр известных аутоиммунных заболеваний весьма широк. Применение только фармакотерапевтических схем с использованием иммуномодуляторов и иммуносупрессантов не всегда приводит к ожидаемым положительным результатам в лечении аутоиммунных заболеваний. Отсутствие эффекта от проводимого медикаментозного лечения может приводить к быстро прогрессирующему течению таких заболеваний. В связи с этим, разработка новых биоспецифических сорбентов, имеющих высокую селективность и способных связывать целевые токсические вещества-мишени, безусловно, является актуальной задачей и обосновывает важность проведенных соискателем исследований.

Несомненной ценностью данной работы является грамотное использование соискателем комбинации теоретического и экспериментального подходов в решении поставленных задач. По результатам молекулярного моделирования взаимодействий аминокислот и Fc-фрагментов IgG выявлены аминокислоты ароматического ряда (Tyr, Trp, Phe), обладающие высоким сродством к Fc-фрагментам IgG разных подклассов. Исходя из активности аминокислот, созданы модели различных ди- и трипептидов Trp-Tyr, Phe-Tyr, Trp-Phe-Tyr, Phe-Trp-Tyr и их производных, а также выделены наиболее перспективные лиганды для биоспецифических сорбентов.

Для получения выбранных пептидов предложены две оригинальные схемы синтеза с использованием незащищенной карбоксильной группы С-концевой аминокислоты или этерифицированного карбоксила с образованием метилового эфира. Пептиды Phe-DTyr, Trp-DTyr, Phe-Trp-DTyr, Trp-Phe-DTyr и Phe-Xaa-Tyr-OMe (Xaa = Ala, Asn, Asp(OBzl), Gln, Gly) получены с выходом 55–94%, а их первичная структура подтверждена секвенированием по методу Эдмана.

Оценка свойств созданных экспериментальных образцов показала высокие результаты связывания общего IgG из плазмы крови. Установлена высокая предельная насыщаемость образцов сорбентов на основе трипептида Phe-Trp-DTyr, а также олигопептидов строения Phe-Xaa-Tyr-OMe (Xaa = Ala, Asn, Asp(OBzl), Gln, Gly). Выявлены высокие емкость и селективность сорбентов к общему IgG, достаточно низкая селективность к IgM, очень низкая к IgE, низкая селективность к общему белку и альбумину. Установлено, что к IgG1 имеет наиболее высокую селективность образец на основе Phe-Gln-Tyr-OMe (86,53%), к IgG2 имеют селективность образцы на основе Phe-Ala-Tyr-OMe, Phe-Asn-Tyr-OMe и Trp-Phe-DTyr, к IgG3 – образцы на основе Phe-Trp-DTyr и Phe-Gln-Tyr-OMe, к IgG4 – образцы на основе Phe-Trp-DTyr и Phe-Asp(OBzl)-Tyr-OMe. Образец на основе Phe-Trp-DTyr не имеет четко выявляемой селективности к подклассам IgG.

Полученные результаты исследований, бесспорно, обладают научной новизной. Методологический аппарат исследования свидетельствует о достоверности полученных результатов и высоком уровне исследовательской компетентности соискателя.

Текст автореферата написан грамотным научным языком и достаточно полно раскрывает содержание диссертационного исследования. Цель, задачи и выносимые на защиту положения полностью соответствуют теме диссертационного исследования. Содержание работы полностью отражено в публикациях и докладах на конференциях, соискателем получен один патент Республики Беларусь на изобретение.

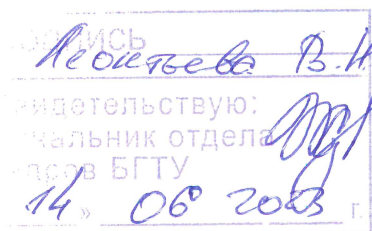
На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа «Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и создание на их основе новых биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G» является самостоятельным, законченным, оригинальным исследованием и соответствует требованиям, предъявляемым ВАК РБ к кандидатским диссертациям, а ее автор, Пустюльга Егор Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биорганическая химия.

Не возражаю против публичного размещения отзыва.

Заведующий кафедрой биотехнологии
учреждения образования
«Белорусский государственный
технологический университет»
кандидат химических наук, доцент



В.Н. Леонтьев



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Пустюльги Егора Сергеевича «Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и создание на их основе новых биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Биоспецифические сорбенты, способные избирательно связывать иммуноглобулины класса G является одной из актуальных проблем биоорганической химии с учетом возможного их практического применения в дальнейших научных исследованиях, а также для медицины и биотехнологии.

В этой связи диссертационная работа Пустюльги Егора Сергеевича по разработке на основе синтезированных олигопептидов, новых биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G и их подклассов из биологических жидкостей, является актуальной с научной и практической точек зрения.

В ходе выполнения диссертационной работы соискателем был проведен поиск лигандов для связывания с IgG и подклассами, синтезирован ряд оригинальных пептидных соединений и созданы экспериментальные образцы сорбентов. Соискателем было показано, что экспериментальные образцы сорбентов обладают высокой активностью к общему IgG, а также получена сравнительная характеристика параметров селективности новых экспериментальных сорбентов с различными классами и подклассами иммуноглобулинов. При выполнении исследования автор использует широкий арсенал методов поиска и синтеза соединений, создания сорбентов и исследования их свойств, что свидетельствует о высокой профессиональной подготовке соискателя.

В целом считаю, что диссертационная работа Пустюльги Егора Сергеевича «Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и создание на их основе новых биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G» по актуальности темы, объёму выполненных исследований, методическому уровню, теоретическому и практическому значению полученных результатов отвечает требованиям, которые предъявляются к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор заслуживает присуждения ему искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Заведующий кафедрой
биологической химии ГрГМУ
доктор. мед. наук, профессор

В.В. Лелевич

Подпись _____ заверяю
Старший инспектор по кадрам отдела кадров
учреждения образования «Брестский
государственный медицинский университет»
Е.А.Лесикова
«14» 06 20 23 г.

Институт биоорганической
химии НАН Беларуси
19.06.2023
№ 738

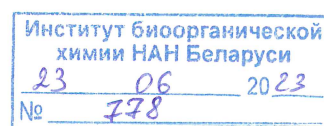
ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

Пустюльги Егора Сергеевича

«Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и создание на их основе новых биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – «Биоорганическая химия».

Диссертационная работа Пустюльги Егора Сергеевича «Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и создание на их основе новых биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G», посвящена созданию биоспецифических сорбентов, связывающих иммуноглобулины G-класса, с целью их применения для лечения аутоиммунных заболеваний. Применявшийся в течение продолжительного времени протокол лечения аутоиммунных заболеваний был основан на применении иммуномодуляторов и иммуносупрессантов, что не всегда оказывалось эффективным, а иногда приводило к системным побочным эффектам. При ряде аутоиммунных заболеваний, таких как дилатационная кардиомиопатия, пиело- и гломерулонефрит, системная красная волчанка, системный склероз и др., это связано с гиперпродукцией иммуноглобулина G, и, поэтому, в последнее время все чаще для лечения аутоиммунных заболеваний применяется комбинированная терапия, дополненная селективной сорбцией IgG человека. В настоящее время для избирательной сорбции применяются IgG-сорбенты на основе различных лигандов, таких как В-домен протеина A бактерий, нанофибра и др. Однако подобным сорбентам присущ ряд недостатков, таких как низкая селективность, обуславливающая серьезные побочные эффекты, высокая стоимость производства, сложность создания. Вышесказанное, позволяет сделать вывод об актуальности поиска новых сорбентов, способных связывать большое количество иммуноглобулина G, обладающих высокой селективностью, а значит сниженной токсичностью, и простых в производстве, чему и посвящена настоящая диссертация.



В диссертационной работе Е.С. Пустюльга применил комплексный подход, включающий на начальном этапе компьютерную структурно-обоснованную идентификацию перспективных пептидов с использованием молекулярного докинга с последующим синтезом перспективных лигандов, на основе чего были получены экспериментальные образцы сорбентов. Было проведено тестирование *in vitro* полученных сорбентов, которое продемонстрировало высокую аффинность идентифицированных молекул, высокую сорбционную емкость и высокую селективность по отношению к иммуноглобулину G.

Диссертационная работа Е.С. Пустюльги является удачным примером современного рационального подхода к разработке лекарственных средств с использованием на первом этапе исследований методов компьютерного молекулярного моделирования. Подтверждением этому служит тот факт, что идентифицированные и синтезированные адсорбенты продемонстрировали свою высокую эффективность в ходе их биологического тестирования.

Диссертация Е.С. Пустюльги представляет собой законченную работу, выполненную на высоком научном уровне, отвечающую требованиям ВАК Республики Беларусь, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – «Биоорганическая химия».

Главный научный сотрудник
лаборатории иммунологии и вирусологии

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,

доктор биологических наук

/В. Г. Вересов/

