

DOI: 10.7868/S2658655X26030021
УДК 577.15

Обзорная статья

Эстеразный профиль: структурные, функциональные и эволюционные аспекты эстераз крови человека и животных

П.А. Воронина¹, Д.А. Белинская¹, К.В. Самодурова¹, Н.В. Гончаров^{1,2,*}

*¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Российская Федерация*

*²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет
Министерства здравоохранения Российской Федерации,*

Санкт-Петербург, Российская Федерация

**E-mail: ngoncharov@gmail.com*

Аннотация. Эстеразный профиль – это совокупность белков плазмы, обладающих эстеразной активностью. Эстеразный профиль может отражать различные функциональные нарушения у людей и животных и претендовать на один из универсальных маркеров различных заболеваний. Кровь является средой для многих биологически активных соединений, субстратов и продуктов метаболизма и в наибольшей степени отражает изменения, происходящие в организме. Цель представленного обзора – собрать информацию о современных представлениях о структурных, функциональных и эволюционных особенностях эстераз крови человека и животных. В статье рассматривается разнообразие субстратной специфичности и каталитических механизмов этих ферментов, обсуждается эволюционное происхождение эстераз и их адаптация к выполнению специфических физиологических функций. В заключение подчеркивается значимость эстераз как диагностических маркеров для таких состояний, как отравление органофосфатами, сердечно-сосудистые заболевания и болезнь Альцгеймера. Более глубокое понимание взаимосвязи структуры и функции эстераз откроет новые перспективы для их терапевтического применения и улучшения диагностических стратегий в медицине.

Ключевые слова: эстеразы, каталитический центр, органофосфаты, субстратная специфичность, ферментный промискуитет, эволюция ферментов, диагностика

Финансирование. Работа выполнена в рамках Госзадания Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН № 075-00263-25-00.

Соблюдение этических стандартов. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Вклад авторов в публикацию. ГНВ – идея работы; ВПА, БДА, ГНВ – сбор и обработка данных литературы; ВПА, БДА, СКВ, ГНВ – написание и редактирование манускрипта.

Ссылка для цитирования: Воронина П.А., Белинская Д.А., Самодурова К.В., Гончаров Н.В. Эстеразный профиль: структурные, функциональные и эволюционные аспекты эстераз крови человека и животных. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова / Russian Journal of Physiology*. 2026. Т. 112. № 3. С. 616–679. <https://doi.org/10.7868/S2658655X26030021>

Сокращения: БА – болезнь Альцгеймера; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ОФИП – органофосфат-индуцируемая полинейропатия; РСА – рентгеноструктурный анализ; АСh – ацетилхолин; АСhE – ацетилхолинэстераза; ВСhE – бутирилхолинэстераза; BSA – сывороточный альбумин быка; СА – карбоангидраза; СВДР – крезилбензодиоксафосфоринноксид; СЕС – карбоксилэстераза; СhE – холинэстеразы; СhоE – холинэстераза *Pseudomonas aeruginosa*; DFP – диизопропилфторфосфат; DFPase – диизопропилфторфосфатаза; ESD – эстераза D; EstD – эстераза D *Neisseria gonorrhoeae*; HSA – сывороточный альбумин человека; iso-OMPA – тетраизопропилпирофосфорамид; NEST – эстеразная область NTE; NEU – нейраминидаза; NPA – 4-нитрофенилацетат; NTE – нейротоксическая эстераза; OAH – оксианионный центр; OP – органофосфаты; PAS – периферический анионный сайт; PLB – фосфолипаза В; PNPLA – пататин-подобная фосфолипаза; PON – параоксоназа; POX – параоксон.

DOI: 10.7868/S2658655X26030021

Review

Esterase Profile: Structural, Functional, and Evolutionary Aspects of Human and Animal Blood Esterases

P.A. Voronina¹, D.A. Belinskaya¹, K.V. Samodurova¹, N.V. Goncharov^{1,2,*}

¹*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation*

²*St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation*

**E-mail: ngoncharov@gmail.com*

Abstract. The esterase profile is a set of plasma proteins that possess esterase activity. The esterase profile can reflect various functional disorders in humans and animals and can serve as a universal marker of diverse diseases. Blood is a medium for many biologically active compounds, substrates, and metabolic products, and it most closely reflects changes occurring in the body. The purpose of this review is to gather information on current understanding of the structural, functional, and evolutionary features of esterases in human and animal blood. This article examines the diversity of substrate specificity and catalytic mechanisms of these enzymes, discusses the evolutionary origin of esterases, and their adaptation to perform specific physiological functions. Finally, the importance of esterases as diagnostic markers

for conditions such as organophosphate poisoning, cardiovascular disease, and Alzheimer's disease is emphasized. A deeper understanding of the relationship between the structure and function of esterases will open new perspectives for their therapeutic application and improve diagnostic strategies in medicine.

Keywords: esterases, catalytic site, organophosphates, substrate specificity, enzyme promiscuity, enzyme evolution, diagnostics

Funding. This work was supported by State Assignment No. 075-00263-25-00 from the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences.

Ethics declarations. This article does not contain any studies involving human or animal subjects.

Conflict of interests. The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article

Authors contribution. GNV – idea of the work; VPA, BDA, GNV – collection and processing of literature data; VPA, BDA, SKV, GNV – writing and editing of the manuscript.

For Citation: Voronina P.A., Belinskaya D.A., Samodurova K.V., Goncharov N.V. Esterase profile: structural, functional, and evolutionary aspects of human and animal blood esterases. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova / Russian Journal of Physiology*. 2026;112(3):616–679. (In Russ.)
<https://doi.org/10.7868/S2658655X26030021>

Abbreviations: AD – Alzheimer's disease; HDL – high-density lipoproteins; OPIP – organophosphate-induced polyneuropathy; XRD – X-ray diffraction analysis; ACh – acetylcholine; AChE – acetylcholinesterase; BChE – butyrylcholinesterase; BSA – bovine serum albumin; CA – carbonic anhydrase; CBDP – cresylbenzodioxaphosphorin oxide; CES – carboxylesterase; ChE – cholinesterases; ChoE – *Pseudomonas aeruginosa* cholinesterase; DFP – diisopropyl fluorophosphate; DFPase – diisopropyl fluorophosphatase; ESD – esterase D; EstD – esterase D of *Neisseria gonorrhoeae*; HSA – human serum albumin; iso-OMPA – tetraisopropyl pyrophosphoramidate; NEST – esterase region of NTE; NEU – neuraminidase; NPA – 4-nitrophenyl acetate; NTE – neuropathy target esterase; OAH – oxyanion hole; OP – organophosphates; PAS – peripheral anionic site; PLB – phospholipase B; PNPLA – patatin-like phospholipase; PON – paraoxonase; POX – paraoxone.

ВВЕДЕНИЕ

Эстеразный профиль – это совокупность белков плазмы крови, обладающих эстеразной активностью. Смежное понятие – эстеразный статус – это совокупность эстеразной активности плазмы, форменных элементов крови, эндотелия и других клеток организма в соответствии с его генетическими и эпигенетическими особенностями. Впервые понятие эстеразного статуса было предложено группой Махаевой в 2004 г. [1]. Позднее авторы предложили использовать свои представления об эстеразном статусе и профиле в качестве комплексного биомаркера воздействия органофосфатов (ОП) на организм [2]. Однако, поскольку эстеразы играют важную роль во многих физиологических процессах, эстеразный профиль может отражать и другие функциональные нарушения у людей и животных. Поиск

диагностических и прогностических маркеров, оценка риска и вероятности летального исхода многих заболеваний является крайне актуальной задачей. Кровь является средой для многих биологически активных соединений, субстратов и продуктов метаболизма и в наибольшей степени отражает изменения, происходящие в организме. Эстеразный профиль может претендовать на роль одного из важных маркеров ряда заболеваний, поэтому заслуживает внимания при определении критериев тяжести COVID-19 [3, 4] и других патологий инфекционного и неинфекционного характера. Достаточно сказать, что одной из его ключевых функций является регуляция уровня ацетилхолина, известного не только как медиатора нейромышечных и нейрональных синапсов, но и как противовоспалительного агента [5–7]. Цель представленного обзора – собрать информацию о современных представлениях о структурных, функциональных и эволюционных особенностях эстераз крови человека и животных.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ И СТРУКТУРНАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ЭСТЕРАЗ

Эстеразы – ферменты класса гидролаз, катализирующие расщепление эфиров на спирты и кислоты при участии молекул воды. Существующая классификация эстераз далека от совершенства, проблемы идентификации и номенклатуры этой группы ферментов неоднократно обсуждались биохимиками [8]. Известно, что на ранних этапах эволюции у живых организмов не было такого обилия специфических ферментов, как у современных представителей животного мира. Первые белковые молекулы могли обладать множеством ферментативных функций. По мере эволюции происходила специализация как уже существующих ферментов, так и возникновение новых ферментов со специфическими функциями. Как следствие, для многих ферментов характерен так называемый ферментный промискуитет – способность катализировать побочные реакции в дополнение к своей основной природной каталитической активности [9]. Благодаря явлению ферментного промискуитета, эстеразы, как никакая другая группа ферментов, имеют широкую субстратную специфичность. Так, параоксоназа 1 (PON1) обладает арилдиалкилфосфатазной (ЕС 3.1.8.1), арилэстеразной (ЕС 3.1.1.2), N-ацил-гомосеринлактоназой (ЕС 3.1.1.81), глюконолактоназой (ЕС 3.1.1.17), 1,4-лактоназой (ЕС 3.1.1.25) и диизопропилфторфосфатазной (ЕС 3.8.2.2) [10, 11] активностями¹. Нейротоксическая эстераза (NTE) локализована преимущественно в эндоплазматическом ретикулуме нейронов, а также в лимфоцитах и тромбоцитах [12, 13], ее ингибирование органофосфатами во многом определяет развитие их отставленной нейротоксичности [14]. Согласно последним данным, NTE является лизофосфолипазой нервной ткани (ЕС 3.1.1.5) и участвует в регуляции метаболизма фосфолипидов [12, 13, 15], однако NTE способна гидролизовать незаряженные ароматические эфиры, такие как фенилацетат и фенилвалерат [16].

Эстеразной активностью могут обладать ферменты, по своей основной физиологической функции не относящиеся к классу эстераз, как, например, карбоангидраза (CA, ЕС 4.2.1.1), которая по своей основной активности относится к лиазам [17]. В контексте эстеразного профиля особый интерес представляет карбоангидраза эритроцитов. Другой пример – фермент, гидролизующий эфиры

¹ Paraoxonase. BRENDA – Enzyme Database. 2025. Режим доступа: https://www.brenda-enzymes.org/search_result.php?quicksearch=1&noOfResults=10&a=9&W=paraoxonase&T=2 (дата обращения: 08.11.2025).

желчных кислот с коферментом А, который имеет два номера, выступая в качестве ацил-КоА-гидролазы жирных кислот (ЕС 3.1.1.2) и глицинацил-КоА-трансферазы (ЕС 2.3.1.65) [18]. Ферменты класса 3.4.21 являются сериновыми протеазами (эндонептидазами), которые обладают также и эстеразной активностью [19]. К эстеразам можно отнести и ферменты, состоящие из нескольких доменов, каждый из которых обладает своей ферментативной активностью, включая эстеразную. Пример – синтаза жирных кислот (ЕС 2.3.1.85), мультидоменный фермент, включающий в себя тиоэстеразный домен [20]. Но самое примечательное, что эстеразной активностью могут обладать белки, даже не относящиеся к ферментам, например, сывороточный альбумин [21–23].

Существенная часть эстераз входит в так называемое суперсемейство α/β -гидролаз, которое представляет собой крупную группу ферментов со схожей структурной организацией, но различными каталитическими свойствами [24, 25]. Ядро (каркас) трехмерной структуры представителей α/β -гидролаз представляет собой α/β -укладку, содержащую 8 β -нитей, соединенных 6 α -спиралями (рис. 1). Считается, что ферменты этого суперсемейства произошли от общего предка, однако в процессе эволюции постепенно приобретали узкую специализацию (протеазы, липазы, пероксидазы, эстеразы, эпоксидгидролазы и дегалогеназы и др.), теряя сходство первичной последовательности, но сохраняя при этом общую трехмерную структуру [24].

Каноническая α/β -укладка представляет собой β -слой, содержащий семь параллельных β -нитей ($\beta 1, \beta 3$ – $\beta 8$) и нить $\beta 2$, которая антипараллельна по отношению к другим. Нити $\beta 3$ – $\beta 8$ соединены α -спиралями, которые упаковываются с двух сторон от β -слоя [24, 26]. Активный центр α/β -гидролаз состоит из высококонсервативной каталитической триады: один нуклеофильный остаток (серин, цистеин, аспарагиновая кислота), один каталитический кислотный остаток (аспарагиновая кислота,

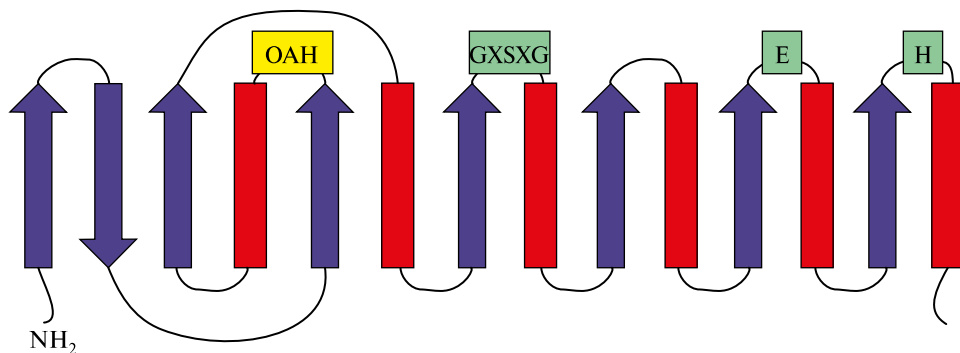


Рис. 1. Схематическое представление канонического каркаса α/β гидролаз. β -нити обозначены синими стрелками, α -спирали – красными прямоугольниками. Зелеными прямоугольниками отмечено расположение аминокислот каталитической триады (Ser в составе мотива GX SXG, His и Glu). Желтым прямоугольником отмечена локализация оксианионного центра (oxyanion hole, OAH)

Fig. 1. Schematic representation of the canonical α/β hydrolase fold. β -strands and α -helices are indicated by blue arrows and red rectangles, respectively. Green rectangles indicate the positions of the amino acid residues of the catalytic triad (Ser in the GX SXG motif, His and Glu). The yellow rectangle indicates the location of the oxyanion hole (OAH)

глутаминовая кислота) и один гистидин, который действует как общий основной каталитический остаток. В эстеразах, принадлежащих суперсемейству α/β -гидролаз, нуклеофильным остатком всегда является серин, который входит в состав высококонсервативного мотива GXSXG (рис. 1) [27], где G – это глицин, S – серин, а X – переменная аминокислота. Каталитический кислотный остаток расположен после нити $\beta 7$ и связан водородной связью с каталитическим гистидином, который расположен в петле после нити $\beta 8$ (рис. 1). Другой важной особенностью эстераз этого семейства является оксианионный центр (рис. 1), который представляет собой карман, стабилизирующий отрицательно заряженный промежуточный продукт, образующийся во время гидролиза сложноэфирной связи. Типичными представителями эстераз из семейства α/β -гидролаз являются ацетилхолинэстераза (AChE), бутирилхолинэстераза (BChE), карбоксилэстераза (CES), эстераза D (ESD).

Ряд эстераз принадлежит так называемому суперсемейству SGNH-гидролаз, названных так из-за наличия четырех строго консервативных остатков Ser-Gly-Asn-His в четырех консервативных блоках I, II, III и V соответственно. Серин Ser в блоке I является нуклеофильным центром каталитической триады. Этот же серин, а также глицин в блоке II и аспарагин в блоке III образуют оксианионный центр. Гистидин в блоке V действует как общий основной каталитический остаток триады. Также в блоке V присутствует третья аминокислота каталитической триады – остаток аспартата, расположенный на третьей аминокислоте, предшествующей каталитическому гистидину, т.е. в мотиве DXXH [28, 29]. Гидролазы α/β - и SGNH-семейств структурно гомологичны. Оба эти семейства принадлежат к классу α/β -белков, их укладки отличаются только топологией центрального β -слоя: семь параллельных плюс одна антипараллельная β -нить в α/β -гидролазах и пять параллельных β -нитей в SGNH-гидролазах [29].

Относительно недавно методами биоинформатики было идентифицировано новое семейство эстераз, прототипом которых является N-концевой домен белка Cas1p (белок, участвующий в O-ацетилировании сиаловой кислоты в составе полисахаридов капсул дрожжеподобных грибов *Cryptococcus neoformans*). Авторы назвали это семейство PC-эстеразными доменами по названию белков Pmr5 и Cas1p (белок Pmr5 растения *Arabidopsis thaliana* был идентифицирован как гомолог Cas1p, выполняющий схожую функцию). PC-эстеразные домены имеют укладку, схожую с укладкой SGNH-гидролаз, такую же каталитическую триаду (Ser-His-Asp), но другие консервативные мотивы [30].

Трехмерная структура не всех эстераз позволяет отнести их к описанным выше семействам. Так, PON1 принадлежит семейству так называемых шестиллопастных β -пропеллерных гидролаз (six-bladed β -propeller hydrolases). Укладка таких гидролаз содержит ядро, которое представляет собой симметричную структуру из шести мотивов (лопастей), каждый из которых состоит из четырех антипараллельных β -нитей (рис. 2) [31–33]. К этому семейству принадлежат такие ферменты, как диизопропилфторфосфатаза кальмара, бактериальный лекарственно-чувствительный белок 35 (Dpr35), белок-маркер старения млекопитающих 30 (SMP30) [34], бактериальная ксилоно-1,4-лактоназа [34], вирусная и бактериальная нейраминидазы [35, 36], нейраминидаза-2 человека [37]. Трехмерные структуры нейраминидазы 1, 3 и 4 человека еще не получены экспериментально, но нет оснований полагать, что они имеют иную структуру [38]. Как и в случае α/β -гидролаз, β -пропеллерные гидролазы, по всей видимости, произошли от общего предка, но в процессе эволюции приобрели узкую специализацию.

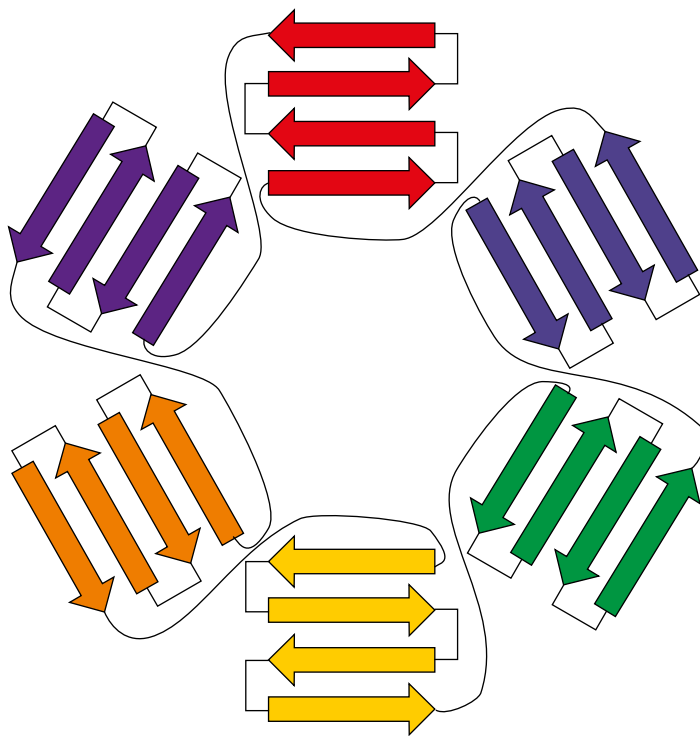


Рис. 2. Схематическое представление каркаса шестилопастных β -пропеллерных белков. β -нити представлены цветными стрелками, каждый мотив («лопасть») выделен отдельным цветом

Fig. 2. Schematic representation of the fold of six-bladed β -propeller proteins. β -strands are represented by colored arrows, with each motif (“blade”) highlighted in a separate color

В контексте эволюции ферментов интересно упомянуть про карбоангидразу (СА) эритроцитов млекопитающих, которая, формально являясь лиазой, обладает и эстеразной активностью. СА эритроцитов относится к α -семейству карбоангидраз (α -CAs). Структурные исследования показали, что все представители этого семейства имеют одинаковую укладку: центральный β -слой, состоящий из 10 β -нитей и окруженный α - и 3_{10} -спиралями [39]. Считается, что такая укладка уникальна для СА и не встречается в других ферментах [40]. Активный центр расположен в большой конической полости глубиной около 15 Å и представляет собой тетраэдрическую структуру, состоящую из иона цинка, трех консервативных остатков гистидина и гидроксид-иона [41].

Согласно последнему анализу, общее количество уникальных эстераз человека составляет 41: 6 карбоксилэстераз, 2 параоксоназы, 15 тиоэстераз, 6 лизофосфолипаз-карбоксилэстераз (LYsophospholipase_carboxylesterases – группа родственных ферментов, обладающих двойной или широкой субстратной специфичностью, в названии которых LY – префикс для обозначения ферментов с фосфолипазной активностью), 2 холинэстеразы, 2 холестеринэстеразы, 3 белка, содержащих PC-эстеразный домен, NTE, метилэстераза, эстераза ацилглюкуроида микофеноловой

кислоты, эстераза гидролизующая изоамилацетат и сиалат-О-ацетилэстераза [27]. В представленном обзоре мы сосредоточились на эстеразах кровеносного русла, их описанию посвящены последующие разделы.

АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗА

Ген AChE человека картирован на длинном плече хромосомы 7, локус 7q22 длиной 7 килобаз на минус-нити [42]. Один ген AChE кодирует три белка, два из которых являются мажорными и получаются в результате альтернативного сплайсинга: использование альтернативных экзонов на 3'-конце приводит либо к синтезу тетрамерного белка нейрональных и нейромышечных синапсов, либо к синтезу заякоренного в мембране эритроцитов димера [43]. По сравнению с AChE синапсов аминокислотная последовательность AChE эритроцитов на С-конце короче на 26 аминокислот, а с С-концевым глицином связан гликолипидный якорь [44]. Экспрессия мономерной несплайсированной (readthrough) изоформы AChE повышается при воспалительных процессах и в ответ на действие ингибиторов холинэстераз, в том числе при болезни Альцгеймера (БА) [45–47].

Трехмерная структура AChE и функциональные участки на поверхности этого фермента хорошо изучены. По данным рентгеноструктурного анализа (РСА), каталитическая триада AChE (Ser203-His447-Glu334, здесь и далее приведена нумерация AChE человека) расположена на дне ущелья глубиной порядка 20 Å, стены которого выстланы 14 ароматическими аминокислотами. Оксианионный центр сформирован двумя остатками глицина и одним остатком аланина [48]. Кристаллические структуры комплексов AChE с некоторыми обратимыми ингибиторами позволили установить, что триметиламмониевая группа ацетилхолина (АХ), связанного в активном центре AChE, формирует π -катионную связь с остатком триптофана Trp86 в так называемом анионном сайте [49]. Трехмерная структура активного центра AChE представлена на рис. 3 на примере ковалентного комплекса фермента с необратимым ингибитором 4К-ТМА – структурным аналогом ацетилхолина [50].

Ацильная петля (остатки 287–299) – гидрофобная область в активном центре, взаимодействующая с ацильным фрагментом лигандов AChE. По современным представлениям, ацильная петля – наиболее конформационно лабильный участок AChE; ее конформационная гибкость, с одной стороны, регулирует размер ущелья активного центра при взаимодействии с АХ и с органофосфатами, а с другой стороны, способствует реакции трансфосфорилирования при реактивации ингибированной AChE оксимами. Было высказано предположение, что прескрининг эффективных реактиваторов AChE разумно проводить, основываясь на том, какие конформационные изменения в ацильной петле вызывает тестируемый препарат [52].

На поверхности глобулы AChE у входа в ущелье активного центра расположен периферический анионный сайт (PAS), отвечающий за первичное связывание лигандов. PAS включает в себя кластер из трех ароматических аминокислот (Trp286, Tyr72, Tyr124) и одного остатка аспартата (Asp74) с отрицательным зарядом. После связывания с PAS молекула лиганда проникает в ущелье активного центра и «по цепочке» ароматических остатков, выстилающих ущелье, продвигается к каталитической триаде [53]. Взаимодействие PAS с его специфическими лигандами (такими как пропидиум, гелламин, токсин кобры фасцикулин, бис-четвертичные соединения) приводит к неконкурентному ингибированию фермента [54]. Кроме того,

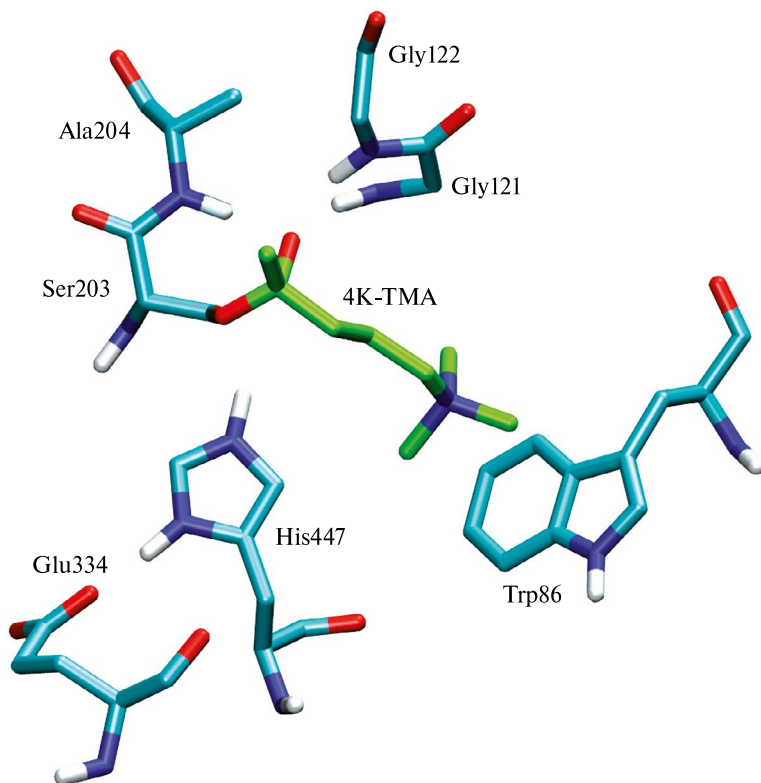


Рис. 3. Трехмерная структура активного центра АСhЕ в комплексе с необратимым ингибитором 4К-ТМА по данным рентгеноструктурного анализа, код PDB 7RB6 [50]. Атомы углерода 4К-ТМА выделены зеленым цветом. Атомы водородов были достроены с помощью онлайн-сервиса CHARMM-GUI [51], неполярные водороды не показаны для четкости рисунка

Fig. 3. Three-dimensional structure of the active site of AChE in complex with the irreversible inhibitor 4K-TMA based on X-ray diffraction data, PDB entry 7RB6 [50]. Carbon atoms of 4K-TMA are highlighted in green. Hydrogen atoms were added using the CHARMM-GUI web-based tool [51]; non-polar hydrogens are not shown for clarity of the figure

в структуре АСhЕ выделяют так называемую Ω -петлю – участок полипептидной цепи, ограниченный дисульфидным мостиком Cys69–Cys96 и простирающийся от PAS внутрь глобулы белка. Ранее предполагалось, что конформационная подвижность Ω -петли АСhЕ способствует продвижению молекул субстратов и ингибиторов к активному центру, однако сравнительный анализ более чем 200 кристаллических структур АСhЕ разных видов с разными лигандами показал, что ни один из лигандов не повлиял на конформацию Ω -петли [55].

Считается, что холинэстеразы (ChE) появились у трипобластов вместе с холинэргической системой. Позже, на раннем этапе эволюции хордовых, произошла дупликация, приведшая к появлению АСhЕ и ВСhЕ [26]. Как уже отмечалось выше, ChE принадлежат суперсемейству α/β -гидролаз, каркас трехмерной структуры

которых представляет собой α/β -укладку из 8 β -нитей и 6 α -спиралей (рис. 1). Этот каркас в процессе эволюции «прирастал» дополнительными субдоменами с различными функциями, по структуре которых суперсемейство α/β -гидролаз можно разделить на различные семейства. ChE относят к семейству CO-эстераз, которое возникло в результате перетасовки геномной последовательности, кодирующей N-концевую последовательность, с геном, кодирующим основную α/β -гидролазную структуру. В большинстве случаев дополнительная N-концевая последовательность CO-эстераз включает в себя два цистеина, образующих дисульфидную связь и таким образом формирующих Ω -петлю. Второй цистеин в паре принадлежит к консервативному мотиву SEDCLYLN, который и является отличительной чертой семейства CO-эстераз [56]. Помимо N-концевого субдомена, CO-эстеразы характеризуются также дополнительным C-концевым субдоменом. Полная трехмерная структура мономеров AChE и BChE представляет собой центральный 12-нитевой смешанный β -слой, окруженный 14 α -спиралями [57]. CO-эстеразы не найдены в растениях, поэтому предполагается, что перетасовка генов (и, как результат, появление CO-эстераз) произошла во время появления линии грибов/метазойных [56, 58]. Тем не менее ферменты, способные гидролизовать АХ, найдены и у прокариот. Так, например, в работе [59] описана холинэстераза грамотрицательной бактерии *Pseudomonas aeruginosa* (ChoE), определены константы гидролиза ряда эфиров карбоновых кислот, включая АХ и *n*-нитрофенилацетат (NPA). ChoE имеет каталитическую триаду Ser-His-Asp, оксианионный центр и по своей структуре принадлежит семейству SGNH-гидролаз.

Основная функция синаптической AChE – гидролиз АХ и, как следствие, прекращение передачи нервного импульса. Органофосфаты – одни из наиболее распространенных ксенобиотиков нейротоксического действия, их острые и некоторые отставленные эффекты связаны с необратимым ингибированием AChE [60]. Разработка реактиваторов, то есть препаратов, способных восстановить функциональную активность ингибированной AChE, остается актуальной задачей [61, 62]. С другой стороны, для терапии БА (или, в более широком смысле, сенильной деменции альцгеймеровского типа), напротив, вводят препараты, ингибирующие AChE, поскольку в мозге больного имеет место дефицит АХ вследствие холинергической денервации коры мозга [63]. Клиническая эффективность одобренных препаратов (такрин, ривастигмин, донепезил, галантамин) невысока, поэтому усилия многих исследователей направлены на поиск новых противодементных средств. В связи с этой проблемой особое внимание уделяют анализу аллостерических сайтов AChE, лиганды которых могли бы стать специфичными и безопасными противодементными препаратами [64, 65]. В экспериментальной разработке находятся полифункциональные (мультиадресные) препараты, например бензимидазолы, сочетающие в себе свойства аллостерических ингибиторов ChE и активаторов серотониновых рецепторов разных типов [66, 67].

Функции AChE эритроцитов все еще малопонятны. Предполагают, что эритроцитарная AChE может играть важную роль в поддержании формы и целостности мембраны эритроцитов [68] или принимать участие в сигналинге, связанном с мобилизацией и оттоком оксида азота из эритроцитов [69, 70]. Активность AChE эритроцитов используют в качестве биомаркера отравления органофосфатами [71, 72], в связи с этим многие исследования посвящены совершенствованию методики измерения ацетилхолинэстеразной активности цельной крови [73, 74].

Поскольку AChE жизненно необходима для нейротрансмиссии, наличие мутаций в гене AChE считалось несовместимым с жизнью. Тем не менее был обнаружен довольно распространенный в человеческой популяции вариант AChE, обусловленный заменой гистидина в положении 322 на аспарагин [75]. Эта мутация не отражается на активности AChE, она определяет антиген группы крови YТ2, носителями которого являются около 10% населения Европы и США [76, 77]. Наличие антител к данному эпитопу AChE эритроцитов (например, при переливании крови) может привести к гемолитической анемии. Кроме того, обнаружен еще целый ряд замен в DNA AChE (SNP, Single Nucleotide Polymorphism, полиморфизм одиночных нуклеотидов), одна из которых в стоп-кодоне Q71stop связана с отсутствием активности AChE, но поскольку носители этой мутации являются исключительно гетерозиготами, активность AChE составляет примерно 30% от нормы [78].

Помимо эритроцитарной AChE, в плазме имеется незначительное количество мономерной несплайсированной AChE, но ее содержание в крови человека крайне невелико, примерно 0,008 мг/л, то есть на 3 и 4 порядка меньше концентрации BChE и параоксоназы 1 (PON1) соответственно. Поэтому в норме плазматическая AChE практически не вносит вклад в эстеразную активность плазмы человека [79, 80]. Однако в плазме крови мыши AChE в 25 раз больше (0,2 мг/л), чем у человека [81].

БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗА

Единственный ген BChE человека расположен на хромосоме 3 в регионе 3q26.1–q26.2, занимая локус длиной 64660 п.н. на минус-нити [82]. Уровень экспрессии гена BChE очень высок – в 4 раза выше среднего. Ген BChE имеет 4 экзона, причем экзон 2 содержит 86% кодирующей последовательности. Экзон 4 кодирует домен тетрамеризации, 40-аминокислотный N-терминальный участок белка, не влияющий на каталитическую активность [27]. Тетрамер BChE имеет богатые пролином фрагменты другого белка – ламеллиподина [83, 84].

Первичные последовательности AChE и BChE человека гомологичны на 70% и идентичны на 54% [85]. Активный центр BChE также лежит на дне ущелья, но размеры этого ущелья больше по сравнению с AChE, поэтому BChE взаимодействует с большим количеством субстратов и ингибиторов [86]. Ущелье активного центра BChE выстлано 8 ароматическими аминокислотными остатками, на 6 остатков меньше, чем у AChE. Как и в случае AChE (рис. 3), каталитическая триада включает в себя остатки Ser-His-Glu (Ser198, Glu325, His438, здесь и далее приведена нумерация BChE человека), оксианионный центр состоит из остатков Gly116, Gly117 и Ala199, а анионный сайт активного центра BChE включает в себя остаток триптофана (Trp82), который связывает катион-аммониевые группы лигандов [87]. Существенные различия обнаружены в структуре ацильной петли этих двух ферментов. Так, фенилаланинам Phe295 и Phe297 в ацильной петле AChE соответствуют менее массивные Leu286 и Val288 в BChE, что способствует связыванию и гидролизу более крупных лигандов [85]. Как было отмечено выше, PAS AChE включает в себя 3 ароматических аминокислоты и один аспарат (Trp286, Tyr72, Tyr124 и Asp74). У BChE ароматического кластера нет, PAS включает в себя лишь два аминокислотных остатка, Asp70 и Tyr332, так что пропидиум и фасцикулин связываются с ним слабо, более того, их избыток активирует BChE, но ингибирует AChE.

В отличие от АСhЕ, у ВСhЕ нет особой функции, которая бы не могла быть компенсирована другими ферментами. Наиболее высокие концентрации ВСhЕ обнаружены в коже, печени, легких, тонком кишечнике, что свидетельствует об участии ВСhЕ в детоксикации ксенобиотиков, поступающих в организм с пищей или воздухом. Функции ВСhЕ проявляются при воздействии многих лекарственных и токсических веществ. ВСhЕ участвует в детоксикации кокаина, гидролизует аспирин, сукцинилхолин, мивакуриум, героин, превращает пролекарство бамбутерол в тербуталин, вазодилатор для лечения астмы, также вместе с СЕС превращает пролекарство СРТ-11 (иринотекан) в активный противоопухолевый препарат SN-38 [88, 89]. ВСhЕ стехиометрически связывается с органофосфатами, что препятствует их воздействию на АСhЕ вследствие их быстрого взаимодействия с ВСhЕ с последующим «старением» фосфонилированного фермента [90]. Профилактическое введение животным ВСhЕ значительно повышает их выживаемость при действии летальных доз отравляющих веществ [91–93].

Одним из эндогенных субстратов ВСhЕ является октаноил-грелин, гормон, вызывающий чувство голода. Было показано, что ВСhЕ эффективно расщепляет октаноиловую группу ацилированного грелина, которая необходима для функционирования гормона, превращая его в дезацилированный грелин [94, 95]. Повышенная активность ВСhЕ обуславливает уменьшение соотношения ацилированного грелина к дезацилированному, что снижает риск ожирения [96, 97]. Введение животным iso-ОМРА (специфического ингибитора ВСhЕ) возвращало уровень грелина на прежний уровень. Такой же эффект был обнаружен у животных, получающих низкие дозы другого ингибитора ВСhЕ, хлорпирифоса [98].

Известно, что ВСhЕ может участвовать в гидролизе липидов. Тот факт, что ВСhЕ способна гидролизовать 4-метилумбеллиферилпальмитат при рН, при котором липазы менее эффективны, указывает на ее роль в качестве резервного фермента при липолизе [99]. Липазы имеют схожую с СhЕ укладку [101] и активный центр (каталитическая триада Ser-His-Asp) [84, 101]. Однако есть и отличия. В структуре некоторых липаз есть так называемая поверхностная петля (surface loop), аналогичная Ω-петле ХЭ. Поверхностная петля регулирует доступ к активному центру липазы. В закрытом состоянии она скрывает гидрофобную поверхность вокруг активного центра. При нековалентном взаимодействии липазы с мембраной в поверхностной петле происходит конформационные изменения, открывающие активный центр, что обеспечивает легкое проникновение крупных лигандов к каталитической триаде. Панкреатической липазе для стабилизации открытой конформации требуется кофермент, так называемая колипаза [102]. В структуре СhЕ, напомним, Ω-петля гораздо менее подвижна [103].

Недавнее исследование изучало корреляцию между обеими СhЕ и вновь идентифицированным семейством эндогенных липидов – холины, ацилированные длинноцепочечными ненасыщенными остатками арахидоновой, олеиновой, линолевой и докозагексаеновой кислот. Эти ацилированные субстраты холина использовались для экспериментов по гидролизу, докинга и кинетических исследований ферментов ВСhЕ и АСhЕ [104]. Арахидонилхолин был единственным из этих ацилированных холинов, который гидролизировался ВСhЕ, а не АСhЕ.

Iso-ОМРА часто используется как специфический ингибитор ВСhЕ, но только в малых концентрациях, высокие концентрации iso-ОМРА ингибируют также АСhЕ и даже СЕС плазмы крыс [105]. Действительно специфическим ингибитором ВСhЕ является этопропазин, тогда как для АСhЕ специфическим ингибитором является

1,5-бис(4-аллилдиметиламмоний фенил)-пентан-3-он дибромид, или BW284C51. Специфическим ингибитором АСhЕ и ВСhЕ является эзерин, его используют при анализе активности СЕС плазмы. Помимо органофосфатов, ингибиторами сериновых эстераз являются фенилметилсульфонилфторид и фторид натрия.

Концентрация ВСhЕв плазме крови человека составляет примерно 5 мг/л. В организме человека и мыши ВСhЕ в среднем на порядок больше по сравнению с АСhЕ [106, 107]. В плазме крови человека ВСhЕ в 2 раза больше, чем у мыши и в 20 раз больше, чем у крысы [81].

КАРБОКСИЛЭСТЕРАЗА

Для ферментов, объединенных номенклатурным номером ЕС 3.1.1.1, характерной чертой является ярко выраженный промискуитет, т.е. очень широкая субстратная специфичность. Так, карбоксилэстеразы (СЕС) микросом катализируют реакции ЕС 3.1.1.2 (арилэстераза), ЕС 3.1.1.5 (лизофосфолипаза), ЕС 3.1.1.6 (ацетилэстераза), ЕС 3.1.1.23 (ацилглицероллипаза), ЕС 3.1.1.28 (ацилкарнитингидролаза), ЕС 3.1.2.2 (пальмитоил-КоА-гидролаза), ЕС 3.5.1.4 (амидаза), ЕС 3.5.1.13 (арилациламидаза); они также гидролизуют эфиры витамина А². Это неудивительно, если знать, что под одним номером значатся ферменты, которые кодируются разными генами, каждый из которых имеет генетические полиморфизмы.

Роль СЕС в жизнедеятельности организма и патогенезе различных заболеваний во многом остается недоисследованной и недооцененной, хотя, безусловно, имеется представление о важной роли разных изоформ этого фермента в метаболизме ксенобиотиков, в т.ч. лекарственных препаратов [108]. У человека карбоксилэстераза-1 (СЕС1) локализована преимущественно в печени [109], а также в эндотелии сосудов [110], тогда как карбоксилэстераза-2 (СЕС2) – в тонком кишечнике [111]. Карбоксилэстераза-3 (СЕС3) локализована в гепатоцитах и адипоцитах, преимущественно в эндоплазматическом ретикулуме [112, 113]. Эти СЕС отличаются по субстратной специфичности. Так, СЕС1 гидролизует преимущественно эфиры с короткой спиртовой и длинной ацильной группой, СЕС2 – эфиры с длинной спиртовой и короткой ацильной группой [114–116]. СЕС1 гидролизует кокаин с образованием бензоилэксгонина и метанола, а СЕС2 гидролизует кокаин с образованием бензойной кислоты и метилового эфира экгонина. СЕС1 гидролизует меперидин (демерол) с образованием неактивных продуктов [115, 117], активирует пролекарства капецитабин, темокаприл, циклезонид [114, 118–120]. СЕС1 катализирует реакции трансэтерификации. Например, в присутствии спирта происходит взаимодействие спиртовой группы с ацил-ферментным аддуктом и образование эфира; так, кокаин трансэтерифицируется с образованием кокаэтилена, продукта более токсичного по сравнению с кокаином [114, 121]. Другой пример – ацил-КоА-холестерол-ацилтрансферазная активность СЕС1, в результате которой образуются эфиры холестерина из жирных ацил-КоА-производных и свободного холестерина. СЕС1 в норме инактивирует эфир метилфенидат (риталин), психостимулятор неамфетаминового ряда («детский кокаин», изъят из оборота в России), назначаемый детям при синдроме дефицита внимания и гиперактивности [122]. Медленное выведение и высокая концентрация препарата в крови

² Carboxylesterase. BRENDA — Enzyme Database. 2025. Режим доступа: [https://www.brenda-enzymes.org/ecexplorer2.php?browser=1&browser=1&f\[nodes\]=169,170&f\[action\]=open&f\[change\]=171&ec_id=2622#2622](https://www.brenda-enzymes.org/ecexplorer2.php?browser=1&browser=1&f[nodes]=169,170&f[action]=open&f[change]=171&ec_id=2622#2622) (дата обращения: 10.11.2025).

обусловлены двумя мутациями на разных аллелях CES1: G143E в оксианионной полости фермента и Asp260fs (frameshift, сдвиг рамки считывания; в результате получается укороченный фермент). В обоих случаях практически отсутствует активность CES [123]. Другой препарат, озельтамивир (тамифлу), используется для лечения и профилактики гриппа А и В, а также птичьего гриппа А/Н1N1. Это пролекарство, которое в печени под действием CES1 превращается в активный метаболит, ингибирующий нейраминидазу вируса [124]. Мутации G143E и Asp260fs обуславливают неэффективность озельтамивира, а также другого пролекарства, трандолаприла, селективного ингибитора ангиотензинпревращающего фермента [125, 126]. CES2 гидролизует пролекарство СРТ-11 (иринотекан) с образованием активного противоопухолевого препарата SN-38, ингибирующего топоизомеразу I [127, 128]. Детоксикацию пиретроидных инсектицидов осуществляют совместно CES1 и CES2 [129, 130]. Физиологическая роль CES3 до конца не определена, известно, что этот фермент участвует в регуляции липидного обмена, способствуя липолизу, окислению жирных кислот и индукции формирования бурого жира (browning) из белых адипоцитов [131]. С эволюционной точки зрения может показаться необычным, что CES участвуют в метаболизме как экзогенных ксенобиотиков, так и различных эндогенных липидов. Однако, учитывая, что избыток липидов может оказывать токсическое действие на организм, функция CES по ограничению токсического воздействия веществ различной природы становится понятной.

Рентгеноструктурный анализ CES1 человека показал, что фермент может существовать в виде мономера, тримера или гексамера; равновесие между олигомерами регулируется связыванием субстратов. CES2 и CES3, напротив, существуют только в виде мономеров [117]. Рентгеноструктурный анализ CES2 и CES3 еще не проведен. CES1 имеет схожую с ChE укладку и строение активного центра (триада Ser221-Glu354-His468 и оксианионный центр Gly142-Gly143-Ala222, здесь и далее приведена нумерация CES1 человека), однако есть и отличия. В CES нет прямого аналога анионного сайта XЭ (Trp86 и Trp82 в AChE и BChE соответственно, рис. 3). Активный центр CES состоит из большого гибкого кармана с одной стороны от каталитического серина и небольшого жесткого кармана с противоположной стороны. Таким образом, активный центр CES существенно больше по размерам по сравнению с AChE и BChE, что позволяет CES гидролизовать больший спектр субстратов [132, 133]. CES и BChE имеют много общих субстратов: нитрофенилацетат, нафтилацетат, иринотекан, кокаин и др. Они также имеют много общих ингибиторов: диизопропилфторфосфат (DFP), тетраизопропилпирофосфорамид (iso-OMPA), параоксон (POX), крезилбензодиафосфориноксид (CBDP) и др. Главное отличие между ними состоит в том, что BChE лучше взаимодействует с положительно заряженными соединениями (экотиопат, VX, бутирилтиохолин), тогда как CES – с нейтральными [135]. Ущелье активного центра CES содержит меньшее число ароматических аминокислот по сравнению с XЭ. С одной стороны, эта структурная особенность позволяет CES связывать и гидролизовать более массивные вещества, с другой – снижает сродство фермента к положительно заряженным лигандам [135].

Активность CES следует учитывать в исследованиях с использованием грызунов в качестве лабораторных животных. Так, в плазме крови мышей CES в 30 раз больше, чем BChE и AChE, а в плазме крови крыс CES в 800 раз больше, чем BChE [136]. CBDP в дозе 2 мг/кг, ингибируя CES в плазме и легких, повышает токсичность зомана для грызунов в 5–10 раз [137]. У человека в крови нет CES,

что может привести к ложной интерпретации данных при оценке токсичности многих соединений [81]. Так, например, из-за этой особенности важность VChE и особенно альбумина в детоксикации органофосфатов у человека может быть недооценена. Бис(4-нитрофенил)фосфат ингибирует CES плазмы крови крыс [138], однако его специфичность *in vivo* обоснована незначительным количеством VChE в крови крыс, а в случае применения на мышах будут ингибированы CES и VChE. Бензил, или 1,2-дифенил-1,2-этандиол, — специфический ингибитор CES печени и кишечника, однако он не ингибирует CES плазмы мышей [139, 27]. Для CES плазмы мышей не найдено специфического ингибитора.

ПАРАОКСОНАЗА

Параоксоназы человека (PON, EC: 3.1.1.2) — это семейство гидролаз, состоящее из трех изоферментов: параоксоназы-1 (PON1), параоксоназы-2 (PON2) и параоксоназы-3 (PON3). PON2 — внутриклеточный фермент, и его присутствие было обнаружено во многих тканях, включая печень, почки, лёгкие, сердце и скелетные мышцы. PON1 и PON3 синтезируются в основном в печени, а затем попадают в кровоток, где циркулируют в крови в составе частиц липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) [140]. PON1 изначально была идентифицирована как фермент, способный гидролизовать ПОХ. Впоследствии это название закрепилось за всем семейством параоксоназ, несмотря на то что PON3 обладает очень низкой параоксоназной активностью, а PON2 не обладает ею вообще [141]. Название «параоксоназа» дает ложное представление, будто ПОХ является лучшим субстратом для этого фермента, однако PON1 гидролизует фенилацетат в 1000 раз быстрее, чем ПОХ [142].

PON1 может гидролизовать широкий спектр субстратов, проявляя лактоназную, арилэстеразную и параоксоназную активность. Гомоцистеин-тиолактон — один из первых выявленных эндогенных субстратов PON1. Расщепление гомоцистеин-тиолактона предотвращает гомоцистеинилирование белков и предупреждает развитие атеросклероза [140–145]. Известно, что активность PON1 снижена у пациентов с БА, сердечно-сосудистыми заболеваниями, почечной дисфункцией, жировой болезнью печени, гепатоцеллюлярной карциномой [146]. PON1 гидролизует и другие эндогенные и природные лактоны, например ловастатин, ингибитор 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазы, лимитирующего фермента мевалонатного пути, продуцирующего холестерин и другие изопреноиды, также лактон гомогентизиновой кислоты, промежуточного продукта распада в организме животных и человека циклических аминокислот — фенилаланина и тирозина [147]; при алкаптонурии — наследственном заболевании, выражающемся в нарушении обмена этих аминокислот, — из-за отсутствия оксидазы гомогентизиновой кислоты процесс останавливается на стадии образования гомогентизиновой кислоты, которая выводится с мочой. Teiber с соавт. в 2018 г. установили, что PON способны гидролизовать два биологически активных δ -лактона, полученных из арахидоновой кислоты: лактон 5,6-дигидрокси-эйкозатриеновой кислоты (5,6-DHTL) и циклоэпоксидциклопентенон (сусло-EC). Максимальной каталитической эффективностью по отношению к этим лактонам обладала PON3, наименьшей — PON2. PON1 эффективно гидролизует 5,6-DHTL, но его удельная активность была примерно в 15 раз ниже, чем у PON3 [148].

PON1 человека имеет массу 43 кДа и состоит из 355 аминокислотных остатков. Молекула PON1 имеет шесть β -слоев, пространственно организованных в виде пропеллера (рис. 2). Помимо шести участков β -складчатости, в молекуле имеется три α -спиральных домена. Два из них богаты гидрофобными остатками аминокислот (лейцина, пролина, фенилаланина и др.), что позволяет им играть роль своеобразного якоря для закрепления молекулы фермента на поверхности частиц ЛПВП [149]. В центральной части молекулы имеется канал, внутри которого располагается активный центр (рис. 4). Данный фермент является кальций-зависимым: внутри центрального канала фермента располагаются 2 иона кальция, хелатированных боковыми цепями Glu и Asp. Один катионов Ca^{2+} выполняет структурную, а второй – каталитическую функцию [31, 149, 150]. Диссоциация одного из ионов кальция вызывает необратимую денатурацию PON1 и, следовательно, потерю его ферментативной активности [151]. EDTA полностью ингибирует активность PON1. Предполагается, что ингибирование активности PON1 катионами некоторых металлов (Cu^{2+} , Tb^{3+}) может быть связано с замещением этими катионами катионов кальция [152, 153].

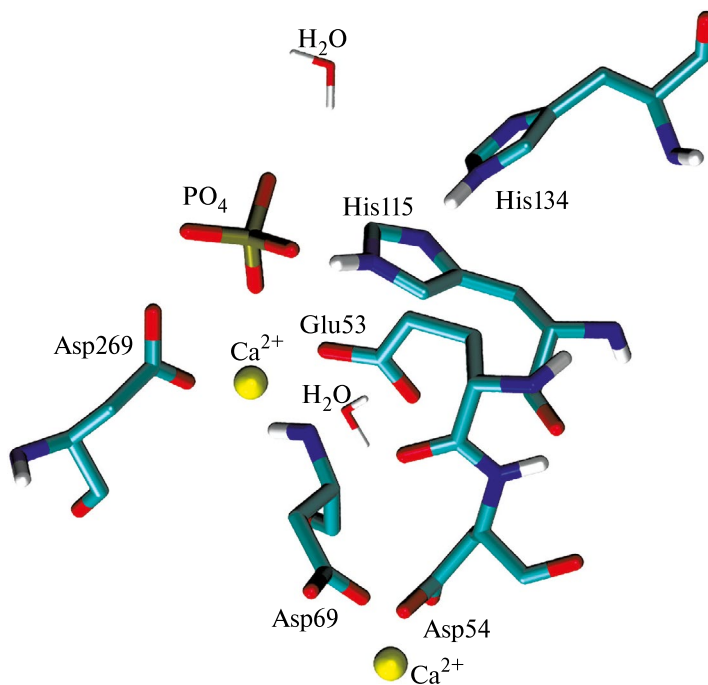


Рис. 4. Трехмерная структура активного центра PON1 человека в комплексе с фосфат-ионом по данным рентгеноструктурного анализа, код PDB 1V04 [31]. Атомы водорода были достроены с помощью онлайн-сервиса CHARMM-GUI [51], неполярные водороды не показаны для четкости рисунка

Fig. 4. Three-dimensional structure of the active site of human PON1 in complex with a phosphate ion based on X-ray diffraction data, PDB entry 1V04 [31]. Hydrogen atoms were added using CHARMM-GUI web-based tool [51], non-polar hydrogens are not shown for clarity of the figure

Предполагается, что ключевую роль в активности фермента играет «гистидиновая диада» — сопряженный комплекс остатков His115 и His134 (нумерация для PON1 человека), благодаря чему His115 способен депротонировать молекулу воды. Образующийся гидроксильный радикал атакует молекулу субстрата и вызывает ее гидролиз. «Каталитический» ион кальция в этом процессе стабилизирует образующийся интермедиат [31, 150]. Ацил-ферментный промежуточный комплекс, по всей видимости, не образуется. Однако роль His115 остается спорной: его замена снижает активность по некоторым субстратам, но не всегда полностью устраняет ее [140]. Квантово-химические расчеты показали, что His115 может образовывать только прочные водородные связи с атакующим гидроксидом для облегчения гидролиза (лактоназной активности), но каталитическое основание обеспечивается глутаматом Glu53 [150]. Остаток Cys284, расположенный рядом с активным центром, участвует в связывании субстрата. Кроме того, Gln192 определяет субстратную специфичность, так как его замены изменяют микросреду активного центра и ориентацию субстрата. Это объясняет различия в активности разных аллельных форм PON1. Таким образом, активный центр фермента высокодинамичен, и даже замены аминокислот, удаленных от него, способны модифицировать его гидролитическую активность [140]. Параоксоназная активность фермента зависит от аминокислот, расположенных рядом с активным центром: замены His184, Leu69, Ser139 и Ser193 резко снижают эффективность гидролиза ПОХ. Однако неясно, какая из этих аминокислот участвует в депротонировании молекулы воды.

Всего известно около 200 единичных нуклеотидных полиморфизмов гена PON1 [154], но определяющее значение имеет два распространенных полиморфизма в кодирующей области гена, L55M и Q192R. Вариант Leu55 имеет более высокую активность по отношению к фенилацетату. Данный эффект объясняется пониженной стабильностью М-изоформы фермента, а также другим полиморфизмом С/Т в положении 108, по которому связывается транскрипционный фактор Sp1 [155, 156]. Полиморфизм Q192R существенно влияет на каталитическую активность PON1 по отношению к зарину, зоману, диазоксону и параоксону [157, 158], хотя авторы другого исследования не нашли существенных отличий по способности аллоформ PON1 гидролизовать диазоксон в физиологических условиях *in vivo* [159].

Имеются данные, что группы пациентов с хроническими органофосфатными-индуцированными патологиями (результат длительного контакта с диазоксоном) имеют высокую встречаемость PON1-192R полиморфизма [160]. С другой стороны, риск развития сердечно-сосудистых заболеваний связан с пониженной активностью по параоксону и зависит главным образом от концентрации PON1 в крови [161, 162]. Этот риск имеет обратную зависимость от уровня ЛПВП, и особенно велик у носителей QQ-полиморфизма [163]. Метаанализ, проведенный Ashiq с соавт., также показал, что мутация Q192R в кодирующей области значимо связана с ишемической болезнью сердца, тогда как мутация L55M не имеет достоверной связи с этим заболеванием [164].

Поскольку воздействие синтетических фосфорорганических соединений стало представлять опасность сравнительно недавно, считается, что параоксоназная активность PON1 является побочной («промискуитетной»). Durrington и Soran в своем обзоре [11] обсуждают эволюцию PON1 и отмечают, что в природе встречается широкий спектр органофосфатов (например, цианобактерии способны вырабатывать большое количество нейротоксичных фосфорорганических соединений), поэтому важность защиты от их потенциального вреда не следует сбрасывать со счетов

как одно из объяснений существования PON1. По своей структуре PON1 очень близка к диизопропилфторфосфатазе (DFPase) кальмара, гидролизующий многие органофосфаты. Структуры обоих ферментов представляют собой шестиллопастные пропеллеры в качестве ядра, а активный центр содержит катионы кальция. Однако, по мнению авторов, общий предок PON1, PON2 и PON3, по всей видимости, выполнял другую функцию, не связанную с детоксикацией органофосфатов. Накопленные данные указывают на то, что PON эволюционировали не как эстеразы, а как лактоназы с неспецифической эстеразной активностью [11, 165]. Интересно, что нейраминидазы человека (NEU1-4), несмотря на схожую с PON1 6-пропеллерную укладку, имеют совсем другую структуру активного центра. Они не являются металлоферментами, а в катализе участвует триада Tyr-Glu-Asp. Глутамат оттягивает протон от гидроксильной группы тирозина и превращает его в нуклеофил. Тирозин атакует аномерный атом углерода сиаловой кислоты и образует с ним ковалентную связь, вытесняя агликоновую часть молекулы. Аспартат протонирует уходящую группу и затем гидролизует ковалентный промежуточный комплекс, освобождая сиаловую кислоту и восстанавливая активный центр фермента [38, 166]. Такое различие отражает эволюционную гибкость β -пропеллерных белков, позволяющую одной и той же архитектуре служить основой для формирования активных центров с разной химической природой и каталитическими функциями.

Концентрация PON1 в плазме крови человека составляет 50 мг/л, в крови мышей в два раза меньше [81].

ЭСТЕРАЗА D

Эстераза D (ESD, EC 3.1.1.1) – это неспецифическая эстераза, которая участвует в детоксикации формальдегида, ее другое название – S-формилглутатионгидролаза. Это внутриклеточная эстераза, в эритроцитах присутствует как растворимый цитозольный фермент, не связанный с мембраной. ESD человека состоит из 282 аминокислот, это примерно в 2 раза меньше, чем у AChE и BChE. Однако ESD сохраняет α/β -гидролазную укладку, мотив GX SXG (GHSMG), каталитическую триаду (Ser149-His260-Asp226) и оксианионную полость, которую формируют амиды остова Leu54 и Met150 (рис. 5). Небольшие размеры молекулы объясняют и небольшие размеры шели, ведущей к активному центру [167].

Основной полиморфизм ESD – это G/E в положении 190 [168]. 80% европейцев являются гомозиготными по Gly190, 1% – по Glu190 [169]. Низкая активность ESD связана с наличием гена ретинобластомы на хромосоме 13q14 – редким наследственным заболеванием сетчатки, преимущественно у детей [170]. Кроме того, патогенез эндогенного увеита связан с продукцией аутоантител к ESD и другим антигенам поврежденного глаза [171]. Некоторые лекарственные препараты (эсмолол, клеvidипин, метиловый эфир изокарбациклина) активируются или инактивируются некой эстеразой в цитоплазме эритроцитов, хотя нет прямых доказательств того, что это именно ESD, поскольку карбоангидраза также обладает эстеразной активностью [27, 172]. ESD эритроцитов ингибируется *n*-хлормеркурибензоатом и хлоридом ртути [173], активируется веществом FPD5 (4-chloro-2-(5-phenyl-1-pyridin-2-yl)-4, 5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl) из класса пиразолинов.

ESD остается очень слабо изученным ферментом, его физиологическая роль до конца не определена. Nandakumar с соавт. установили, что уровень ESD повышен у пациенток с синдромом поликистозных яичников, неотягощенным другими

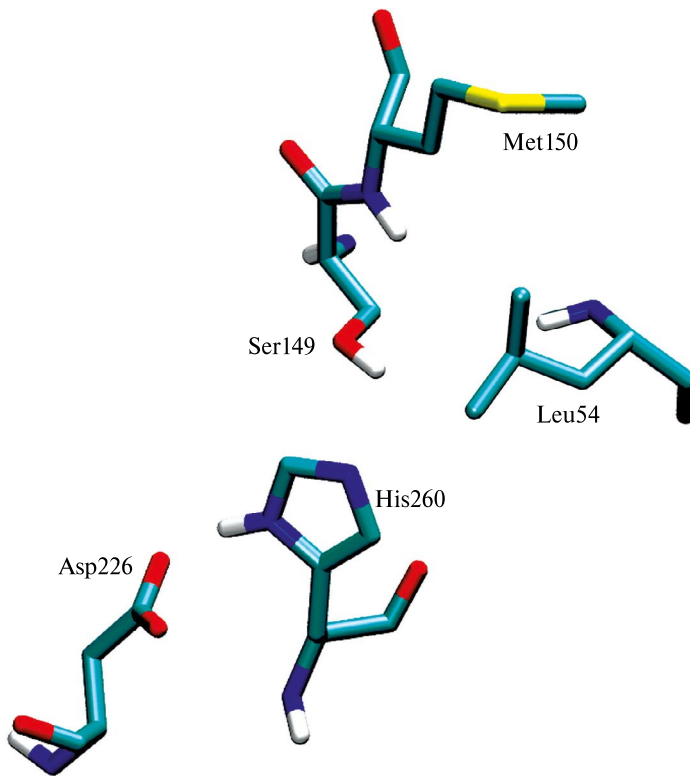


Рис. 5. Трехмерная структура активного центра эстеразы D человека по данным рентгено-структурного анализа, код PDB 3FCX [167]. Атомы водородов были достроены с помощью онлайн-сервиса CHARMM-GUI [51], неполярные водороды не показаны для четкости рисунка

Fig. 5. Three-dimensional structure of the active site of human ESD, based on X-ray diffraction data, PDB entry 3FCX [167]. Hydrogen atoms were added using CHARMM-GUI web-based tool [51], non-polar hydrogens are not shown for clarity of the figure

заболеваниями. Однако, поскольку уровни белков теплового шока и белков-участников антиоксидантной защиты организма не отличались от контроля, авторы предположили, что повышение ESD не связано с оксидативным стрессом и воспалением, а вызвано другим неизвестным процессом [174]. Установлено, что ESD обладает противовирусным действием в отношении вируса ящура, усиливая фосфорилирование IRF3 и способствуя экспрессии интерферон-стимулированных генов [175]. Wang с соавт. показали, что ESD играет важную роль в противовирусной активности и по отношению к сенекавирусу А, защищая гликопротеин лизосомальной мембраны LAMP1 от глутатионилирования и повышая стабильность лизосом, тем самым способствуя работе механизмов противовирусной защиты [176].

Про эволюцию ESD также известно немного. Potter с соавт. исследовали роль ESD *Neisseria gonorrhoeae* (EstD) и показали, что в этот фермент является важным элементом защиты от нитрозативного стресса, опосредованного S-нитрозоглутатионом и нитритом, и необходим для выживания бактерий внутри эпителиальных

клеток шейки матки и для образования биопленок на клеточных поверхностях. С другой стороны, это исследование не подтвердило роль EstD гонококка в защите от формальдегида. Авторы отмечают, что, хотя конкретный субстрат для EstD *N. gonorrhoeae* пока не идентифицирован, возможно, что фермент катализирует гидролиз токсичного промежуточного продукта, образующегося из гидроксисульфенамидоглутатиона (GSNHOH) [177]. Это исследование иллюстрирует, как активность эстераз может быть эволюционно переориентирована на выполнение совершенно иных задач в зависимости от биологического контекста.

КАРБОУАНГИДРАЗА

Карбоангидразы (CAs, EC 4.2.1.1) – это семейство цинксодержащих металлоферментов, основной (канонической) функцией которых является катализ обратимой гидратации углекислого газа. Таким образом, они играют важную роль в регуляции кислотно-щелочного баланса и транспорте CO₂. CA – древний фермент, найден в археях, прокариотах и эукариотах [178]. Известно как минимум о шести семействах CA (α , β , γ , δ , ζ и η), у эукариот встречается семейство α (α -CAs), которое, в свою очередь, имеет множество изоформ [179]. Эритроциты млекопитающих содержат изоформы CAI (медленная) и CAII (быстрая). У человека функционально доминирует CAII, однако у других животных соотношение количества и активности эритроцитарных изоформ может варьировать в зависимости от среды обитания [180, 181].

С середины прошлого века стали появляться данные о том, что CA эритроцитов обладает промискуитетной эстеразной активностью по отношению к NPA и родственным эфирам [182, 183], кумаринам и тиокумаринам [184], эфирам моносахаридов [185]. Механизм эстеразной активности CA до конца не определен. Известно, что активный сайт CAII человека и родственных изоформ содержит катион Zn²⁺, координированный тремя гистидинами (His94, His96, His119 в CAII человека) и каталитическую молекулу воды (рис. 6). Катион цинка депротонирует молекулу воды, превращая ее в гидроксид-ион. В результате нуклеофильной атаки гидроксид-иона на CO₂ образуется циклический интермедиат, из которого с участием еще одной молекулы воды образуется бикарбонат [186]. Предполагается, что реакция гидролиза эфиров протекает по тому же механизму: в результате нуклеофильной атаки гидроксид-иона на сложноэфирную связь образуется тетраэдрический интермедиат, который с участием молекулы воды распадается на спирт и карбоновую кислоту. Роль оксианионного центра играет катион цинка [187].

Эффективность эстеразной активности CAIIна порядки ниже по сравнению с физиологической активностью [182], однако некоторые аминокислотные замены могут усилить эстеразную активность фермента и повлиять на субстратную специфичность. Так, замена Thr200Gly в CAII человека приводит к трёхкратному увеличению скорости гидролиза NPA (пара-нитрофенилацетат), тогда как активность по отношению к мета-нитрофенилацетату повышается в 10 раз, а к орто-нитрофенилацетату – в 380 раз. Предполагается, что эта замена устраняет стерические препятствия для нитрогруппы [189]. Замены Ala65Val и Thr200Ala приводят к усилению активности CAII человека по отношению к 2-нафтилацетату в 40 раз, и авторы объясняют этот эффект тем, что эти замены адаптируют активный центр к более крупным субстратам [183]. Замены Val121Ala и Val143Ala в CAII человека способствуют увеличению скорости гидролиза пара-нитрофенилвалерата

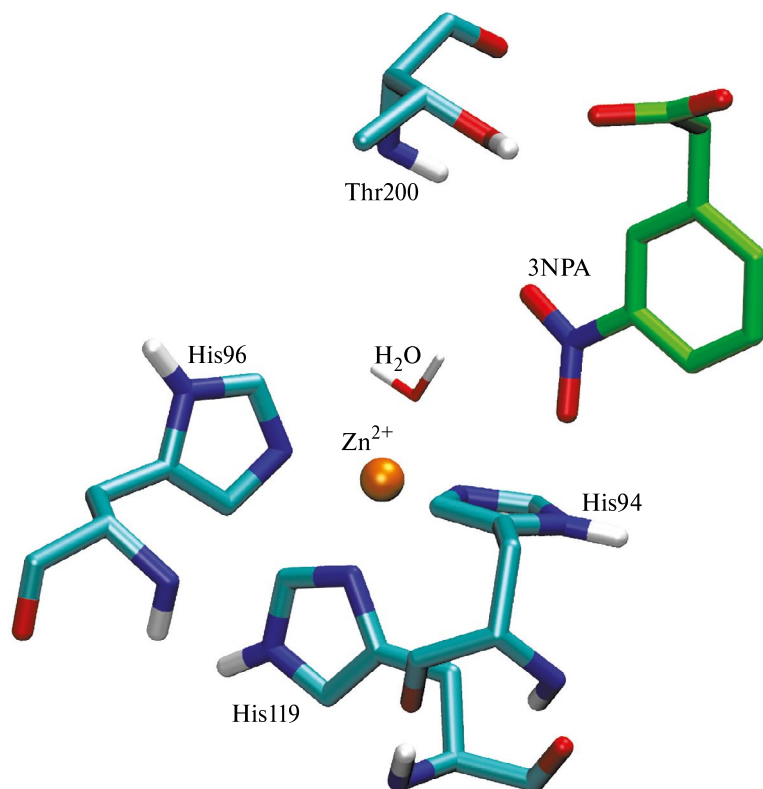


Рис. 6. Трехмерная структура активного центра карбоангидразы II человека в комплексе с 3-нитрофенилуксусной кислотой (3-nitrophenyl acetic acid, 3NPA) по данным рентгеноструктурного анализа, код PDB 9LR6 [188]. Атомы углерода 3NPA выделены зеленым цветом. Атомы водорода были построены с помощью онлайн-сервиса CHARMM-GUI [51], неполярные водороды не показаны для четкости рисунка

Fig. 6. Three-dimensional structure of the active site of human CA II in complex with 3-nitrophenyl acetic acid (3NPA) based on X-ray diffraction data, PDB entry 9LR6 [188]. Carbon atoms of 3NPA are highlighted in green. Hydrogen atoms were added using CHARMM-GUI web-based tool [51], non-polar hydrogens are not shown for clarity of the figure

в 3000 раз, что также связывают с увеличением гидрофобного кармана и устранением стерических препятствий для связывания субстратов с массивной ацильной группой [191]. Эстеразная активность САII обратимо ингибируется каптоприлом и эналаприлом по конкурентному типу [191], а также пищевым красителем эритрозином В по неконкурентному типу [192].

Изменение эстеразной активности СА может отражать различные функциональные нарушения у человека. Так, Gambhir с соавт. установили, что эстеразная активность эритроцитарной СА снижена у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа по сравнению с контролем, что, по мнению авторов, может быть связано с повышенным содержанием гликированной формы СА при диабете [193].

Все эксперименты по анализу эстеразной активности СА проведены с использованием «искусственных» субстратов (в основном NPA), природный субстрат этой активности пока не найден, и, как следствие, остается невыясненным, какое функциональное значение имеет (или имела) эстеразная активность СА у человека или других эукариот. Если бы у эстеразной активности СА была бы значимая физиологическая роль, можно было бы ожидать селективной адаптации этой активности у некоторых изоформ, но такие данные еще не получены.

НЕЙРОТОКСИЧЕСКАЯ ЭСТЕРАЗА

Нейротоксическая эстераза (NTE, EC 3.1.1.5) сейчас известна как пататин-подобный белок 6, содержащий фосфолипазный домен (patatin-like phospholipase domain-containing protein 6, PNPLA6), шестой член из девяти белков этого семейства, экспрессируемых у человека. NTE локализована на цитоплазматической стороне эндоплазматического ретикулама нейронов [13]. Изначально NTE была идентифицирована как основная мишень фосфорорганических соединений, вызывающих отставленную органофосфат-индуцируемую полинейропатию (ОФИП, OPIDP), признаками которой являются атаксия, потеря функции дистальных отделов сенсорных и моторных аксонов периферических нервов. Позже было установлено, что физиологическая функция NTE – гидролиз фосфатидилхолина и лизофосфатидилхолина; таким образом, фермент представляет собой фосфолипазу В (PLB) и участвует в гомеостазе мембранных липидов [194, 195].

Накопление лизофосфатидилхолина в мембранах нейронов ведет к нарушению формирования нейритов (аксонов) и целостности уже существующих аксонов, т.к. NTE (PLB) участвует в антероградном транспорте макромолекул в дистальные участки аксона [196]. Подавление активности NTE связывают с нарушением баланса ионов кальция и активацией цистеиновых протеаз [197]. Однако для необратимого ингибирования NTE должна иметь место вторичная химическая реакция – деацилирование аддукта (т.н. «старение», aging) [198]. Ингибирование NTE само по себе не ответственно за дегенерацию аксонов, как это было продемонстрировано с ингибиторами иного химического строения (органофосфинаты, сульфонилфториды и карбаматы), которые также ковалентно взаимодействуют с NTE, но без последующего деацилирования [199]. Считается, что ингибирование NTE и ОФИП способствует развитию нейродегенеративных заболеваний, патогенез которых сопряжен с дегенерацией аксонов: это и БА, и болезнь Паркинсона, и болезни двигательных нейронов, которые включают боковой амиотрофический склероз и прогрессирующий бульбарный паралич [13]. NTE присутствует не только в нейронах, но и в некоторых других клетках, в частности, в эндотелии, лимфоцитах и тромбоцитах [200, 201]; это свидетельствует о том, что его функция связана не столько с проведением нервного импульса, сколько с универсальными процессами поддержания мембранного состава и гомеостаза эндоплазматического ретикулама. Последние данные указывают на то, что NTE присутствует в пограничных клетках глии, ответственных за формирование ГЭБ, где она играет решающую роль в обеспечении избирательной проницаемости ГЭБ [202].

NTE человека представляет собой полипептидную цепь, состоящую из 1327 аминокислот и образующую две функциональные области. Первая из них (аминокислоты 1–680) включает в себя N-концевой трансмембранный домен (TMD) и регуляторный R-домен с тремя предполагаемыми доменами связывания циклических

нуклеотидов (CNBD). Вторая область (аминокислоты 681–1327) характеризуется наличием папатинового домена, который, как предполагается, отвечает за каталитическую активность фермента [204]. С-концевой фрагмент NTE, состоящий из аминокислот 727–1216, называют эстеразной областью (NEST). Установлено, что этот фрагмент может гидролизовать мембранные липиды в условиях *in vitro* [195]; следовательно, N-концевой домен не участвует в катализе. При этом N-концевой фрагмент, включающий трансмембранный сегмент и регуляторный домен, играет ключевую роль в правильной субклеточной локализации (эндоплазматический ретикулум) и ассоциации фермента с мембраной [204].

Трехмерная структура NTE еще не получена экспериментально, что затрудняет детальное понимание молекулярных механизмов активности фермента. Эксперименты по сайт-направленному мутагенезу показали, что ключевую роль в активности NTE человека играют аминокислотные остатки Ser966, Asp960 и Asp1086 (или Ser1014, Asp1008 и Asp1134, в зависимости от изоформы), которые, как предполагается, представляют собой каталитическую триаду NTE [206]. Каталитический серин служит нуклеофильным центром и является частью консервативного мотива GXSXG (GTSIG). Asp960, предположительно, стабилизирует каталитический серин через водородную связь, помогая ориентировать и активировать гидроксильную группу серина, усиливая ее нуклеофильность. В отличие от большинства сериновых гидролаз с триадой Ser-His-Glu(Asp), в триаде NTE отсутствует гистидин, и Asp1086 выполняет роль общей кислоты/основания. В отсутствие экспериментальных данных первичное представление об организации активного центра и роли отдельных аминокислот можно получить методами молекулярного моделирования. Wu и Wang [206] методами *in silico* сконструировали две трехмерные модели эстеразного домена NTE человека (NEST), одну – методом гомологичного моделирования на основе известной трехмерной структуры бактериального пататин-подобного белка, другую – с помощью программы AlphaFold2 (системы искусственного интеллекта, разработанной для предсказания трехмерных структур белков). Согласно полученным данным, трехмерная укладка NEST включает в себя 5–6 β -нитей и 7–8 α -спиралей. В полученных моделях расстояние между каталитическим серином и Asp960 оказалось слишком велико (более 20 Å), чтобы этот аспарат мог играть непосредственную роль в катализе. Поэтому вопрос о механизме реакции в активном центре NTE остается открытым, авторы склоняются к тому, что в катализе участвует каталитическая диада Ser-Asp, как в других пататин-подобных белках (рис. 7). Согласно полученным в этой работе данным, Gly938 и Gly939 (Gly986 и Gly987) формируют оксианионный центр, а Phe1018, Met1066 и Leu1068 (Phe1066, Met1114 и Leu1116) – гидрофобный карман (рис. 7). Дополнительно авторы провели молекулярный докинг различных ингибиторов в активный центр NEST, который показал, что подверженные и неподверженные старению соединения по-разному взаимодействуют с активным центром, что может объяснить различия в механизме ингибирования NTE [207]. Мы полагаем, судя по предсказанной трехмерной структуре NTE (рис. 7), что Ile967 (Ile1015) также может быть частью оксианионного центра.

За последние годы ряд работ уточнил спектр PNPLA6-ассоциированных синдромов: от спастической параплегии и синдромов Буше–Нойхаузера и Гордона–Холмса до ретинопатий и комбинированных неврологических фенотипов. Связь между остаточной активностью NTE и тяжестью фенотипа (включая прогрессирующую ретинопатию) была продемонстрирована на животных моделях

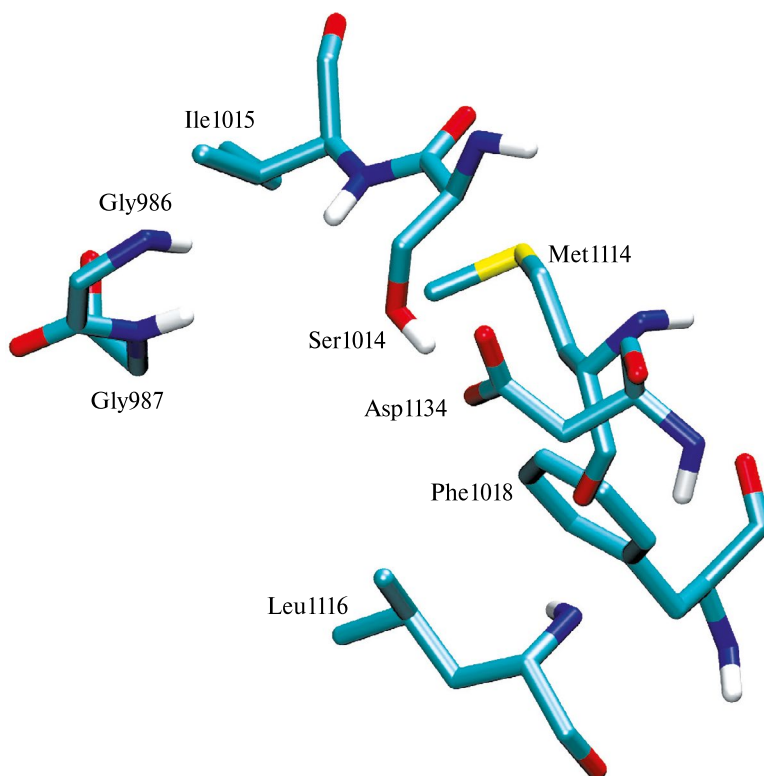


Рис. 7. Трехмерная структура активного центра NTE человека из базы данных AlphaFold [207], код AF-Q8IY17-3-F1-v6. Атомы водорода были достроены с помощью онлайн-сервиса CHARMM-GUI [51], неполярные водороды не показаны для четкости рисунка

Fig. 7. Three-dimensional structure of the active site of human NTE from the AlphaFold database [207], entry AF-Q8IY17-3-F1-v6. Hydrogen atoms were added using the CHARMM-GUI web-based tool [51], non-polar hydrogens are not shown for clarity of the figure

и клинических наблюдениях: частичная потеря активности коррелируют с менее тяжелыми, но прогрессирующими нарушениями. Это подчеркивает, что не только полная потеря функции NTE, но и ее количественное снижение имеет клиническое значение [126, 208, 209]. Присутствие NTE в тромбоцитах и лимфоцитах делает возможным использование образцов крови для биомониторинга воздействия орга-нофосфатов [13]. При этом нужно учитывать, что уровень фермента в крови в разы ниже, чем в нервной ткани, что требует чувствительных методов определения.

NTE – это эволюционно консервативный белок, его гомологи обнаружены у многих многоклеточных животных, включая беспозвоночных. Белки, гомологи-чные C-концевой области PNPLA6/NTE, присутствуют даже у бактерий [210]. У дрозофилы белок Swiss-Cheese (SWS) выполняет аналогичные NTE функции в поддержании целостности нейрональных мембран, а мутации в нем вызывают дегенерацию нейронов во взрослом возрасте [211]. Наиболее консервативна

C-концевая область NTE, более того, она гомологична пататину — липазе, обнаруженной в растениях, отсюда белки PNPLA и получили свое название [210]. N-концевые регуляторные участки демонстрируют большую вариабельность, отражающую адаптацию к различным типам клеток — от глиальных и нейрональных у млекопитающих до мембранных фосфолипаз у беспозвоночных. Регуляторная функция этого участка была подтверждена пока только у дрозофилы [212]. Таким образом, NTE представляет собой пример консервативного фермента, в котором сохраняется древний каталитический механизм пататиноподобных липаз, но постепенно усложняются регуляторные домены, обеспечивающие функциональную специализацию в нервной системе многоклеточных организмов.

АЛЬБУМИН

Альбумин — главный белок плазмы крови, который может связывать самые разные молекулы и атомы: воду и катионы металлов, свободные жирные кислоты и жирорастворимые гормоны, неконъюгированный билирубин, соли желчных кислот, трансферрин, окись азота, аспирин, варфарин, фенобутозон, клофибрат, фенитоин и другие лекарства и токсины [213]. Связывая лекарства и токсические вещества, альбумин в значительной степени определяет их фармако- и токсикокинетику, транспортируя к тканям-мишеням или местам их биотрансформации. Основной эндогенный лиганд альбумина — жирные кислоты, которые могут связываться в 7 сайтах связывания жирных кислот FA1-7 [214]. Экзогенные вещества взаимодействуют с альбумином в трех основных лекарственных сайтах: сайты Sudlow I и II [215], а также сайт III [216]. Количество вторичных сайтов неизвестно, так, некоторые гормоны и регуляторные пептиды связываются в полости между доменами I и III альбумина, которая не пересекается с основными лекарственными сайтами [217]. В молекуле альбумина содержится 17 дисульфидных связей и свободная тиоловая группа в составе Cys34, которая может подвергаться редокс-модификации [218]. Другой известный тип модификации альбумина, сопряженный с метаболическими нарушениями — гликирование по остаткам лизина и аргинина [219].

Однако альбумин является не только пассивным, но и активным участником фармако- и токсикокинетических процессов. В ряде экспериментов была показана псевдоэстеразная (необратимое ковалентное связывание субстрата с белком с выходом в раствор одного продукта гидролитического расщепления) и истинно эстеразная (связывание субстрата с активным центром альбумина с последующим распадом комплекса на фермент и продукт) активность альбумина по отношению к нафтилацетату и фенилацетату, эфирам жирных кислот, нитрофенилацетату, аспирину, глюкуроиду кетопрофена, циклофосфамиду, эфирам никотиновой кислоты, октаноилгРЕлину, нитроацетанилиду, нитротрифторацетанилиду, фосфорорганическим пестицидам и фосфорорганическим отравляющим веществам [8]. Однако большинство исследователей, обсуждая гидролитическую активность белка, говорят только о псевдоэстеразной реакции — о необратимом ацилировании Tyr411 в сайте Sudlow II, а экспериментальный факт наличия у альбумина истинно эстеразной активности связывают с медленным деацилированием этого тирозина.

Наиболее удобным субстратом для изучения гидролитической активности альбумина является NPA. Существует 82 сайта ацетилирования альбумина NPA, из них 59 лизинов, 10 серинов, 8 треонинов, 4 тирозина и 1 аспаргат. Из этих сайтов самым активным является Tyr411, который единственный ацетируется в течение первых

нескольких минут; ацелирование по другим сайтам требует сверхнасыщающих концентраций NPA (до 666 : 1) и длительного времени инкубации (48 ч) [21]. Для детекции выхода нехромогенной ацетатной группы, которая является продуктом только истинно эстеразной реакции, мы изучили взаимодействие альбумина быка (BSA) с NPA методом ЯМР [220]. В течение 50 мин наблюдали увеличение сигналов продуктов реакции (нитрофенола и ацетата) и уменьшение сигнала исходного вещества. Медленное деацелирование Tug411 нельзя считать проявлением истинно эстеразной активности альбумина. Согласно литературным данным, среднее время полужизни ацелированного Tug411 в сайте Sudlow II составляет 60 ч [21], поэтому наблюдаемый в представленном эксперименте относительно быстрый выход ацетата подтверждает предположение о том, что в молекуле альбумина существует сайт истинно эстеразной активности, отличный от Tug411. По данным методов молекулярного моделирования, сайт Sudlow I с каталитическим Tug150 является лучшим кандидатом на роль сайта истинно эстеразной активности [220]. Методом ЯМР было установлено, что варфарин ингибирует выход ацетатной группы при гидролизе NPA альбумином быка [221]. Поскольку варфарин является специфичным лигандом сайта Sudlow I, этот результат служит еще одним свидетельством того, что именно сайт Sudlow I является основным сайтом истинно эстеразной активности альбумина. Специфичные ингибиторы карбоксилэстеразы и бутирилхолинэстеразы СВРD и этопропазин не ингибировали скорость выхода ацетатной группы [3], это подтверждает, что в препарате коммерческого альбумина нет примесных эстераз, которые могли бы гидролизовать нитрофенилацетат.

Скорость гидролиза NPA альбумином быка возрастает в присутствии реактиватора холинэстераз карбоксима [222]. Мы выдвинули предположение, что реактиваторы оказывают эффект на эстеразную активность альбумина по тому же механизму, по которому они действуют на ингибированные ChE, а именно, отщепляя остаток фосфорной или фосфоновой кислоты от каталитически активной аминокислоты фермента. Возможность реализации этого механизма и его отличия от механизма реактивации холинэстераз мы оценили методами молекулярной динамики на примере модельного реактиватора фторид-иона [223]. На первом этапе изучили взаимодействие фторид-иона с одиннадцатью фосфорорганическими аддуктами VChE. Были рассчитаны средние значения расстояния между атомами фосфора аддуктов и фтора за 1 нс в стабильной конформации. В приближении молекулярной механики эти значения обуславливают эффективность реактивации фторид-ионом: чем оно меньше, тем активнее происходит перенос остатка фосфорной или фосфоновой кислоты на фторид-ион. В целом предложенная нами оценка эффективности реактивации VChE по расстоянию между фтором и фосфором согласуется с известными экспериментальными данными, поэтому на следующем этапе с помощью разработанного подхода оценили возможность дефосфорилирования фторид-ионом аддуктов параоксона с Tug150 и Tug411 альбумина человека (HSA). По значению расстояния между атомами фтора и фосфора, Tug150 дефосфорилируется фторид-ионом активнее по сравнению с Tug411, это служит еще одним свидетельством в пользу того, что сайт Sudlow I можно классифицировать как сайт истинно эстеразной активности альбумина [223]. Таким образом, можно утверждать, что альбумин обладает истинно эстеразной активностью в сайте Sudlow I, для которого характерна более медленная стадия ацилирования и более быстрая стадия деацилирования по сравнению с сайтом Sudlow II.

Сайт Sudlow I – это сложная по своей структуре полость, состоящая из нескольких камер. Сайт образован всеми 6 α -спиралями субдомена IА и фрагментом «поворот–спираль» субдомена IВ (остатки 148–154). Сайт состоит из центральной зоны, связанной с тремя отдельными полостями. Внутренняя часть сайта преимущественно неполярна, однако содержит два полярных участка: один – у основания сайта (Tyr150, His242, Arg257), а другой – у входа в него (Lys195, Lys199, Arg218, Arg222). Сайт Sudlow II локализован в субдомене IIIА. Согласно данным кристаллографического анализа, сайт Sudlow II HSA представляет собой неполярный «карман» с единственным полярным участком, который образован остатками Tyr411 и Arg410 и расположен у самого входа в сайт [224]. Нитрофенилацетат проявляет наибольшее сродство к Tyr411 [21, 220, 221], поскольку небольшой неполярный карман сайта Sudlow II более соразмерен молекуле NPA, чем более вместительный полярный сайт Sudlow I.

По данным молекулярного моделирования, при взаимодействии альбумина с NPA гистидин His242 в сайте Sudlow I служит оксианионным центром, фиксируя положение ацильной группы NPA [220, 221]. Многие исследователи указывают на участие аргинина Arg410 в псевдоэстеразной активности альбумина в сайте Sudlow II. Полагают, что Arg410 выполняет роль оксианионного центра [225], однако по данным наших вычислительных экспериментов, молекула NPA не контактирует с Arg410 альбумина. Схожий результат был получен нами при исследовании аддуктов POX с сайтами Sudlow методом молекулярной динамики [223]: в аддукте POX с Tyr150 HSA имидазольная группа His242 взаимодействует с фосфорильным атомом кислорода аддукта (то есть His242 играет роль оксианионного центра), а гуанидиновая группа Arg257 взаимодействует с одним эфирным атомом кислорода фосфорорганического фрагмента (рис. 8а), тогда как в аддукте POX с Tyr411 фосфорильный атом аддукта не взаимодействует ни с одной из аминокислот альбумина (рис. 8б). Таким образом, аддукты, образованные в сайте Sudlow I, больше похожи по своей геометрии на активный центр ChE, чем аддукты в сайте Sudlow II.

Есть ли в сайтах Sudlow альбумина аминокислотный остаток, выполняющий роль акцептора протона каталитически активных тирозинов Tyr150 и Tyr411 для усиления их нуклеофильности, пока до конца не выяснено. В ближайшем окружении Tyr150 сайта Sudlow I HSA расположены остатки His242 и Glu153, которые гипотетически могли бы выполнять эту функцию, а в ближайшем окружении Tyr411 сайта Sudlow II таких аминокислот нет. Каталитические центры с участием тирозина известны среди гидролаз, например у вышеупомянутой нейраминидазы, каталитическая триада которой включает Tyr, Glu и Asp. Впрочем, псевдоэстеразную реакцию в сайте Sudlow II нельзя в полной мере назвать классической ферментативной реакцией. Процесс ацетилирования сайта Sudlow II представляет собой в большей степени не ферментативный катализ, а стехиометрическое взаимодействие альбумина с эфиром с образованием ацетилированного аддукта. В активном центре AChE продуктивная конформация ацетилхолина жестко зафиксирована взаимодействием карбонильного кислорода с оксианионным центром и катионной группы с Trp84, благодаря чему реакция гидролиза ацетилхолина ацетилхолинэстеразой – одна из самых быстрых в природе. А в случае сайта Sudlow II не исключено, что реакция переноса ацетатной группы с NPA на тирозин возможна при разных конформациях субстрата и аминокислот сайта, достаточным условием является лишь близкое расстояние между реагирующими группами. Тем не менее расположенный на поверхности белка положительно заряженный Arg410, вероятно, служит

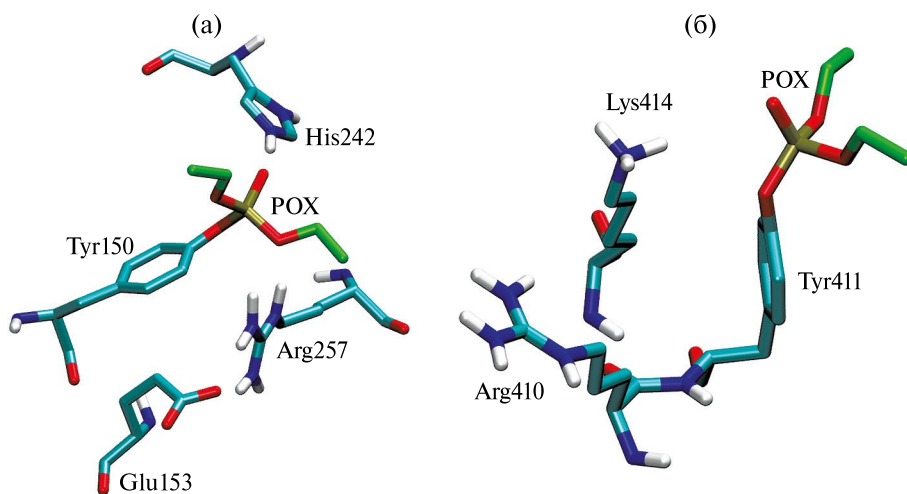


Рис. 8. Конформация аддукта параоксона (POX) с Tyr150 в сайте Sudlow I (а) и Tyr411 в сайте Sudlow II (б) по данным молекулярного моделирования. Неполарные водороды не показаны для четкости рисунка

Fig. 8. Conformation of the paraoxon (POX) adduct with Tyr150 in Sudlow site I (a) and Tyr411 in Sudlow site II (б) based on molecular modeling data. Non-polar hydrogens are not shown for clarity

«крючком» для молекулы NPA, содержащей в своей структуре три поверхностных атома кислорода, на которых локализован отрицательный заряд. Механизм истинно эстеразной активности еще предстоит выяснить с применением методов сайт-направленного мутагенеза и квантово-химических методов анализа.

Уровень альбумина в плазме грызунов, как и у всех других млекопитающих, высок и составляет 40–50 г/л [81, 226], а наличие у альбумина эстеразной активности позволяет включить его в эстеразный профиль организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В табл. 1 собрана основная информация об эстеразах, представленная в обзоре. Несмотря на различия в первичных последовательностях, разные размеры и третичные укладки, многие эстеразы демонстрируют схожие принципы организации каталитического центра, что свидетельствует об эволюционной связи между различными семействами гидролаз и подтверждает концепцию о происхождении современного разнообразия эстераз от ограниченного числа древних предковых форм.

Функциональное разнообразие эстераз крови обусловлено их ферментным промискуитетом, позволяющим катализировать широкий спектр реакций, от гидролиза липидов и ксенобиотиков до участия в регуляции сигнальных и защитных процессов. Дублирование и взаимозамещение многих гидролитических реакций различными компонентами комплекса эстераз свидетельствуют о важности своевременного гидролиза эфирных связей и недопущения перегрузки эндотелиальных клеток сосудов эфирами, что может привести к их трансформации или преждевременной гибели [110]. В этой связи эстеразный профиль можно рассматривать как

Таблица 1. Структурные и функциональные особенности эстераз кровеносного русла
Table 1. Structural and functional features of blood esterases

Фермент	Локализация в кровеносном русле (концентрация)	Особенности третичной структуры	Особенности активного центра	Примеры субстратов
AChE	Мембрана эритроцитов, плазма (0,008 мг/л у человека, 0,2 мг/л у мыши)	α/β -укладка, ядро из 8 β -нитей и 6 α -спиралей	Каталитическая триада (Ser-His-Glu), оксианионный центр (Gly-Gly-Ala), анионный центр (Trp)	Ацетилхолин
BChE	Плазма (5 мг/л у человека, 2,6 мг/л у мыши, 0,25 мг/л у крысы)	α/β -укладка, ядро из 8 β -нитей и 6 α -спиралей	Каталитическая триада (Ser-His-Glu), оксианионный центр (Gly-Gly-Ala), анионный центр (Trp)	Кокаин, сукцинилхолин, октаноил-грезин
CEs	Плазма (0,5 мг/л у человека, 80 мг/л у мыши)	α/β -укладка, ядро из 8 β -нитей и 6 α -спиралей	Каталитическая триада (Ser-His-Glu), оксианионный центр (Gly-Gly-Ala)	Эфиры жирных кислот и холестерина, иринотекан, озельгамивир, аспирин, NPA
PON1	ЛПВП (50 мг/л у человека, 25 мг/л у мыши)	Шестилопастное β -пропеллерное ядро	Каталитическая диада (His-His), Ca^{2+} , H_2O	Фенилацетат, гомощистеин-тиолактон, POX
ESD	Цитозоль эритроцитов	α/β -укладка, 9 β -нитей и 10 α -спиралей	Каталитическая триада (Ser-His-Asp), оксианионный центр (Leu-Met)	S-формилглутатин, NPA, нафтилацетат
CA	Цитозоль эритроцитов	α/β -укладка, центральный β -слой из 10 β -нитей, окруженный α -и 3_{10} -спиралями	Zn^{2+} (координированный тремя His), H_2O	NPA, кумарины эфиры моносахаридов
NTE	Цитозольная сторона мембраны ЭР лимфоцитов и тромбоцитов	α/β -укладка эстеразного домена, предположительно 5–6 β -нитей и 7–8 α -спиралей	Предположительно каталитическая диада (Ser-Asp), оксианионный центр (Gly-Gly-Ile), гидрофобный карман (Phe, Met, Leu)	Фосфатидилхолин и лизофосфатидилхолин
Альбумин	Плазма (40–50 г/л)	α -спиральная трехлопастная структура	Сайт псевдоэстеразной активности: Тут; сайт истинно эстеразной активности: предположительно, диада Тут-His(Glu) и оксианионный центр His	NPA, POX

чувствительный индикатор метаболического состояния организма, отражающий как физиологическую норму, так и развитие патологических изменений различной природы. Накопленные данные о структурной организации и субстратной специфичности этого класса ферментов открывают перспективы для использования эстеразного профиля в качестве комплексного биомаркера воздействия отравляющих веществ и тяжести различных патологий. Дальнейшее развитие исследований предполагает систематический поиск корреляций между активностью ключевых эстераз и клинико-биохимическими показателями крови человека в норме и при различных патологиях, включая воспалительные, нейродегенеративные и метаболические заболевания. Представляется необходимым изучить межвидовые различия эстеразного профиля для анализа адекватности животных моделей и выявления эволюционных особенностей метаболизма липидов и фармако-/токсикокинетики различных ксенобиотиков. Важным направлением является разработка и совершенствование стандартизированных методик количественной оценки эстеразного статуса с учетом генетических полиморфизмов и влияния сопутствующих патологий. Отдельного внимания заслуживает поиск специфических эндогенных субстратов и установление функциональной роли малоизученных эстераз, что позволит уточнить их вклад в эстеразный профиль и таким образом повысить его диагностическую значимость. Такие исследования создадут основу для разработки новых биомаркеров и потенциальных терапевтических мишеней.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Соколовская Л.Г., Сиголаева Л.В., Еременко А.В. и др. Семейство биосенсорных анализаторов для оценки «эстеразного статуса» организма. *Химическая и биологическая безопасность*. 2004. № 1–2 (13–14). С. 21–31.
2. Makhaeva G.F., Boltneva N.P., Lushchekina S.V. et al. Synthesis, molecular docking, and biological activity of 2-vinyl chromones: Toward selective butyrylcholinesterase inhibitors for potential Alzheimer's disease therapeutics. *Bioorg. Med. Chem.* 2018. Vol. 26. No. 16. Pp. 4716–4725. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.08.010>
3. Belinskaia D.A., Voronina P.A., Popova P.I. et al. Albumin Is a Component of the Esterase Status of Human Blood Plasma. *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24. No. 12. 10383. <https://doi.org/10.3390/ijms241210383>
4. Goncharov N.V., Avdonin P.P., Voitenko N.G. et al. Searching for New Biomarkers to Assess COVID-19 Patients: A Pilot Study. *Metabolites*. 2023. Vol. 13. No. 12. 1194. <https://doi.org/10.3390/metabo13121194>
5. Hajiasgharzadeh K., Khabbazi A., Mokhtarzadeh A. et al. Cholinergic anti-inflammatory pathway and connective tissue diseases. *Inflammopharmacology*. 2021. Vol. 29. No. 4. Pp. 975–986. <https://doi.org/10.1007/s10787-021-00812-z>
6. Piovesana R., Salazar Intriago M.S., Dini L. et al. Cholinergic Modulation of Neuroinflammation: Focus on $\alpha 7$ Nicotinic Receptor. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22. No. 9. 4912. <https://doi.org/10.3390/ijms22094912>
7. Simões J.L.B., Sobierai L.D., Leal I.F. et al. Action of the purinergic and cholinergic anti-inflammatory pathways on oxidative stress in patients with Alzheimer's disease in the context of the COVID-19 pandemic. *Neuroscience*. 2023. Vol. 512. Pp. 110–132. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2022.12.007>

8. Goncharov N.V., Belinskaya D.A., Razygraev A.V. et al. On the Enzymatic Activity of Albumin. *Bioorg. Khim.* 2015. Vol. 41. No. 2. Pp. 131–144. <https://doi.org/10.1134/S1068162015020041>
9. Fuentes-Ugarte N., Pereira-Silva M., Cortes-Rubilar I. et al. How enzyme functions evolve: genetic, structural, and kinetic perspectives. *Biophys. Rev.* 2025. Vol. 17. No. 2. Pp. 467–478. <https://doi.org/10.1007/s12551-025-01314-w>
10. Taler-Verčič A., Goličnik M., Bavec A. The Structure and Function of Paraoxonase-1 and Its Comparison to Paraoxonase-2 and -3. *Molecules.* 2020. Vol. 25. No. 24. 5980. <https://doi.org/10.3390/molecules25245980>
11. Durrington P., Soran H. Paraoxonase 1: evolution of the enzyme and of its role in protecting against atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* 2024. Vol. 35. No. 4. Pp. 171–178. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000936>
12. Richardson R.J., Hein N.D., Wijeyesakere S.J. et al. Neuropathy target esterase (NTE): overview and future. *Chem. Biol. Interact.* 2013. Vol. 203. No. 1. Pp. 238–244. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2012.10.024>
13. Richardson R.J., Fink J.K., Glynn P. et al. Neuropathy target esterase (NTE/PNPLA6) and organophosphorus compound-induced delayed neurotoxicity (OPIDN). *Adv. Neurotox.* 2020. Vol. 4. Pp. 1–78. <https://doi.org/10.1016/bs.ant.2020.01.001>
14. Сиголаева Л.В., Курочкин И.Н., Еременко А.В. и др. Биосенсоры для анализа активности нейротоксичной эстеразы как биомаркера токсического действия нейропатогенных фосфорорганических соединений. *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева)*. 2004. Т. 48. № 4. С. 65–72.
15. Рудакова Е.В., Серебрякова О.Г., Болтнева Н.П. и др. Биохимическая модель на мышцах для оценки нейропатического потенциала фосфорорганических соединений. *Токсикологический вестник*. 2012. № 6 (117). С. 20–24.
16. Borhan B., Ko Y., Mackay C. et al. Development of surrogate substrates for neuropathy target esterase. *Biochim. Biophys. Acta.* 1995. Vol. 1250. No. 2. Pp. 171–182. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(95\)00058-3](https://doi.org/10.1016/0167-4838(95)00058-3)
17. Winum J.Y., Colinas P. Carbonic Anhydrases as Esterases and Their Biotechnological Applications. In: C.T. Supuran, G. de Simone (eds.). *Carbonic Anhydrases as Biocatalysts*. Amsterdam: Elsevier, 2015. Pp. 361–371. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63258-6.00021-4>
18. Sfakianos M.K., Wilson L., Sakalian M. et al. Conserved residues in the putative catalytic triad of human bile acid Coenzyme A: amino acid N-acyltransferase. *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. No. 49. Pp. 47270–47275. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207463200>
19. Whittaker R.G., Manthey M.K., Le Brocq D.S. et al. A microtiter plate assay for the characterization of serine proteases by their esterase activity. *Anal. Biochem.* 1994. Vol. 220. No. 2. Pp. 238–243. <https://doi.org/10.1006/abio.1994.1333>
20. Choi W., Li C., Chen Y. et al. Structural dynamics of human fatty acid synthase in the condensing cycle. *Nature.* 2025. Vol. 641. No. 8062. Pp. 529–536. <https://doi.org/10.1038/s41586-025-08782-w>
21. Lockridge O., Xue W., Gaydess A. et al. Pseudo-esterase activity of human albumin: slow turnover on tyrosine 411 and stable acetylation of 82 residues including 59 lysines. *J. Biol. Chem.* 2008. Vol. 283. No. 33. Pp. 22582–22590. <https://doi.org/10.1074/jbc.M802555200>

22. Belinskaya D.A., Voronina P.A., Shmurak V.I. et al. Serum Albumin in Health and Disease: Esterase, Antioxidant, Transporting and Signaling Properties. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22. No. 19. 10318. <https://doi.org/10.3390/ijms221910318>
23. Belinskaya D.A., Jenkins R.O., Goncharov N.V. Albumin Is an Integrative Protein of Blood Plasma and Beyond. *Int. J. Mol. Sci.* 2024. Vol. 25. No. 23. 12627. <https://doi.org/10.3390/ijms252312627>
24. Ollis D.L., Cheah E., Cygler M. et al. The α/β hydrolase fold. *Protein Eng.* 1992. Vol. 5. No. 3. Pp. 197–211. <https://doi.org/10.1093/protein/5.3.197>
25. Carr P.D., Ollis D.L. α/β hydrolase fold: an update. *Protein Pept. Lett.* 2009. Vol. 16. No. 10. Pp. 1137–1148. <https://doi.org/10.2174/092986609789071298>
26. Pezzementi L., Chatonnet A. Evolution of cholinesterases in the animal kingdom. *Chem. Biol. Interact.* 2010. Vol. 187. No. 1–3. Pp. 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.03.043>
27. Lockridge O., Quinn D.M., Radić Z. Esterases. In: *Comprehensive Toxicology*. Elsevier, 2018. Pp. 277–307. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.01970-x>
28. Akoh C.C., Lee G.C., Liaw Y.C. et al. GDSL family of serine esterases/lipases. *Prog. Lipid Res.* 2004. Vol. 43. No. 6. Pp. 534–552. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2004.09.002>
29. Denessiouk K., Denesyuk A.I., Permyakov S.E. et al. The active site of the SGNH hydrolase-like fold proteins: Nucleophile-oxyanion (Nuc-Oxy) and Acid-Base zones. *Curr. Res. Struct. Biol.* 2023. Vol. 7. 100123. <https://doi.org/10.1016/j.crstbi.2023.100123>
30. Anantharaman V., Aravind L. Novel eukaryotic enzymes modifying cell-surface biopolymers. *Biol. Direct.* 2010. Vol. 5. 1. <https://doi.org/10.1186/1745-6150-5-1>
31. Harel M., Aharoni A., Gaidukov L. et al. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2004. Vol. 11. No. 5. Pp. 412–419. <https://doi.org/10.1038/nsmb767>
32. Blaha-Nelson D., Krüger D.M., Szeler K. et al. Active Site Hydrophobicity and the Convergent Evolution of Paraoxonase Activity in Structurally Divergent Enzymes: The Case of Serum Paraoxonase 1. *J. Am. Chem. Soc.* 2017. Vol. 139. No. 3. Pp. 1155–1167. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b10801>
33. Grunkemeyer T.J., Mata D.G., Doddapaneni K. et al. Insights into the Mechanism of Paraoxonase-1: Comparing the Reactivity of the Six-Bladed β -Propeller Hydrolases. *Biochemistry.* 2024. Vol. 63. No. 24. Pp. 3287–3299. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b01115>
34. Pääkkönen J., Hakulinen N., Andberg M. et al. Three-dimensional structure of xylo-nolactonase from *Caulobacter crescentus*: A mononuclear iron enzyme of the 6-bladed β -propeller hydrolase family. *Protein Sci.* 2022. Vol. 31. No. 2. Pp. 371–383. <https://doi.org/10.1002/pro.4229>
35. Hsiao Y.S., Parker D., Ratner A.J. et al. Crystal structures of respiratory pathogen neuraminidases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009. Vol. 380. No. 3. Pp. 467–471. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.01.108>
36. McAuley J.L., Gilbertson B.P., Trifkovic S. et al. Influenza virus neuraminidase structure and functions. *Front. Microbiol.* 2019. Vol. 10. 39. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00039>

37. Buchini S., Gallat F.X., Greig I.R. et al. Tuning mechanism-based inactivators of neuraminidases: mechanistic and structural insights. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2014. Vol. 53. No. 13. Pp. 3382–3386. <https://doi.org/10.1002/anie.201309675>
38. Maurice P., Baud S., Bocharova O.V. et al. New Insights into Molecular Organization of Human Neuraminidase-1: Transmembrane Topology and Dimerization Ability. *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. 38363. <https://doi.org/10.1038/srep38363>
39. Kannan K.K., Notstrand B., Fridborg K. et al. Crystal structure of human erythrocyte carbonic anhydrase B. Three-dimensional structure at a nominal 2.2-Å resolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1975. Vol. 72. No. 1. Pp. 51–55. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.1.51>
40. Liljas A., Laurberg M. A wheel invented three times. The molecular structures of the three carbonic anhydrases. *EMBO Rep.* 2000. Vol. 1. No. 1. Pp. 16–17. <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kvd016>
41. Di Fiore A., D'Ambrosio K., Ayoub J. et al. α -Carbonic anhydrases. In: C.T. Supuran, A. Nocentini (eds.). *Carbonic Anhydrases*. Amsterdam: Academic Press, 2019. Pp. 19–54. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816476-1.00002-2>
42. Getman D.K., Eubanks J.H., Camp S. et al. The human gene encoding acetylcholinesterase is located on the long arm of chromosome 7. *Am. J. Hum. Genet.* 1992. Vol. 51. No. 1. Pp. 170–177.
43. Rachinsky T.L., Camp S., Li Y. et al. Molecular cloning of mouse acetylcholinesterase: tissue distribution of alternatively spliced mRNA species. *Neuron.* 1990. Vol. 5. No. 3. Pp. 317–327. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(90\)90168-f](https://doi.org/10.1016/0896-6273(90)90168-f)
44. Roberts W.L., Santikarn S., Reinhold V.N. et al. Structural characterization of the glycoinositol phospholipid membrane anchor of human erythrocyte acetylcholinesterase by fast atom bombardment mass spectrometry. *J. Biol. Chem.* 1988. Vol. 263. No. 35. Pp. 18776–18784.
45. Zimmermann M. Neuronal AChE splice variants and their non-hydrolytic functions: redefining a target of AChE inhibitors? *Br. J. Pharmacol.* 2013. Vol. 170. No. 5. Pp. 953–967. <https://doi.org/10.1111/bph.12359>
46. Campanari M.L., Navarrete F., Ginsberg S.D. et al. Increased Expression of Read-through Acetylcholinesterase Variants in the Brains of Alzheimer's Disease Patients. *J. Alzheimers Dis.* 2016. Vol. 53. No. 3. Pp. 831–841. <https://doi.org/10.3233/JAD-160220>
47. Kim S.H., Kandiah N., Hsu J.L. et al. Beyond symptomatic effects: potential of donepezil as a neuroprotective agent and disease modifier in Alzheimer's disease. *Br. J. Pharmacol.* 2017. Vol. 174. No. 23. Pp. 4224–4232. <https://doi.org/10.1111/bph.14030>
48. Carletti E., Colletier J.P., Dupeux F. et al. Structural evidence that human acetylcholinesterase inhibited by tabun ages through O-dealkylation. *J. Med. Chem.* 2010. Vol. 53. No. 10. Pp. 4002–4008. <https://doi.org/10.1021/jm901853b>
49. Harel M., Schalk I., Ehret-Sabatier L. et al. Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993. Vol. 90. No. 19. Pp. 9031–9035. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.19.9031>
50. Gerlits O., Blakeley M.P., Keen D.A. et al. Room temperature crystallography of human acetylcholinesterase bound to a substrate analogue 4K-TMA: towards a neutron structure. *Curr. Res. Struct. Biol.* 2021. Vol. 3. Pp. 206–215. <https://doi.org/10.1016/j.crstbi.2021.08.003>

51. Jo S., Kim T., Iyer V.G. et al. CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM. *J. Comput. Chem.* 2008. Vol. 29. No. 11. Pp. 1859–1865. <https://doi.org/10.1002/jcc.20945>
52. Gerlits O., Fajer M., Cheng X. et al. Structural and dynamic effects of paraoxon binding to human acetylcholinesterase by X-ray crystallography and inelastic neutron scattering. *Structure.* 2022. Vol. 30. No. 11. Pp. 1538–1549.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2022.09.006>
53. Bourne Y., Radic Z., Sulzenbacher G. et al. Substrate and product trafficking through the active center gorge of acetylcholinesterase analyzed by crystallography and equilibrium binding. *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. No. 39. Pp. 29256–29267. <https://doi.org/10.1074/jbc.M603018200>
54. Johnson G., Moore S.W. The peripheral anionic site of acetylcholinesterase: structure, functions and potential role in rational drug design. *Curr. Pharm. Des.* 2006. Vol. 12. No. 2. Pp. 217–225. <https://doi.org/10.2174/138161206775193127>
55. Radić Z. Connectivity between surface and interior in catalytic subunits of acetylcholinesterases inferred from their X-ray structures. *J. Neurochem.* 2024. Vol. 168. No. 4. Pp. 386–396. <https://doi.org/10.1111/jnc.15802>
56. Chatonnet A., Brazzolotto X., Hotelier T. et al. An evolutionary perspective on the first disulfide bond in members of the cholinesterase-carboxylesterase (COesterase) family: possible outcomes for cholinesterase expression in prokaryotes. *Chem. Biol. Interact.* 2019. Vol. 308. Pp. 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.05.016>
57. Dvir H., Silman I., Harel M. et al. Acetylcholinesterase: from 3D structure to function. *Chem. Biol. Interact.* 2010. Vol. 187. No. 1–3. Pp. 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.01.042>
58. Pezzementi L., Chatonnet A. Evolution of cholinesterases in the animal kingdom. *Chem. Biol. Interact.* 2010. Vol. 187. No. 1–3. Pp. 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.03.043>
59. Pham V.D., To T.A., Gagné-Thivierge C. et al. Structural insights into the putative bacterial acetylcholinesterase ChoE and its substrate inhibition mechanism. *J. Biol. Chem.* 2020. Vol. 295. No. 26. Pp. 8708–8724. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.011809>
60. Гончаров Н.В., Белинская Д.А., Авдонин П.В. Органофосфат-индуцированная патология: механизмы развития, принципы терапии и особенности экспериментальных исследований. *Российский физиологический журнал. им. И.М. Сеченова.* 2023. Т. 109. № 10. С. 1349–1397. <https://doi.org/10.31857/S0869813923100059>
61. Lovins A.R., Miller K.A., Buck A.K. et al. 4-Amidophenol Quinone Methide Precursors: Effective and Broad-Scope Nonoxime Reactivators of Organophosphorus-Inhibited Cholinesterases and Resurrectors of Organophosphorus-Aged Acetylcholinesterase. *ACS Chem. Neurosci.* 2024. Vol. 15. No. 9. Pp. 1813–1827. <https://doi.org/10.1021/acscemneuro.4c00011>
62. Bennett J.P., Meek E.C., Chambers J.E. Reactivation by novel pyridinium oximes of rat serum and skeletal muscle acetylcholinesterase inhibited by organophosphates. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2024. Vol. 38. No. 7. e23750. <https://doi.org/10.1002/jbt.23750>

63. Mesulam M. The cholinergic lesion of Alzheimer's disease: pivotal factor or side show? *Learn. Mem.* 2004. Vol. 11. No. 1. Pp. 43–49.
<https://doi.org/10.1101/lm.69204>
64. Bondžić A.M., Lazarević-Pašti T.D., Leskovac A.R. et al. A new acetylcholinesterase allosteric site responsible for binding voluminous negatively charged molecules – the role in the mechanism of AChE inhibition. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2020. Vol. 151. 105376. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105376>
65. Das A., Sinha K., Chakrabarty S. Elucidating the molecular mechanism of noncompetitive inhibition of acetylcholinesterase by an antidiabetic drug chlorpropamide: identification of new allosteric sites. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2024. Vol. 26. No. 46. Pp. 28894–28903. <https://doi.org/10.1039/d4cp02921f>
66. Chelusnova Y.V., Voronina P.A., Belinskaia D.A. et al. Benzimidazole-Carboxamides as Potential Therapeutics for Alzheimer's Disease: Primary Analysis In Silico and In Vitro. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2023. Vol. 175. No. 3. Pp. 345–352.
<https://doi.org/10.1007/s10517-023-05865-4>
67. Belinskaya D.A., Voronina P.A., Krivorotov D.V. et al. Anticholinesterase and Serotonergic Evaluation of Benzimidazole-Carboxamides as Potential Multifunctional Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Pharmaceutics.* 2023. Vol. 15. No. 8. 2159. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15082159>
68. Gupta S., Belle V.S., Kumbarakeri Rajashekhar R. et al. Correlation of Red Blood Cell Acetylcholinesterase Enzyme Activity with Various RBC Indices. *Ind. J. Clin. Biochem.* 2018. Vol. 33. No. 4. Pp. 445–449.
<https://doi.org/10.1007/s12291-017-0691-0>
69. Teixeira P., Duro N., Napoleão P. et al. Acetylcholinesterase conformational states influence nitric oxide mobilization in the erythrocyte. *J. Membr. Biol.* 2015. Vol. 248. No. 2. Pp. 349–354. <https://doi.org/10.1007/s00232-014-9749-3>
70. Saldanha C., Silva Herdade A. Erythrocyte Acetylcholinesterase is a Signaling Receptor. *Novel Approach Drug Design & Development.* 2018. Vol. 3. No. 4. Pp. 77–80.
<https://doi.org/10.19080/NAPDD.2018.03.555617>
71. Assis C.R.D., Linhares A.G., Cabrera M.P. et al. Erythrocyte acetylcholinesterase as biomarker of pesticide exposure: new and forgotten insights. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2018. Vol. 25. No. 19. Pp. 18364–18376.
<https://doi.org/10.1007/s11356-018-2303-9>
72. Nanhah V.J.K., Ntepe L.J.M., Tchuente B.R.T. et al. Neurological and organ health risks associated with pesticide mixture exposure in banana farm workers in Moungo Division, Cameroon. *Sci. Rep.* 2025. Vol. 15. No. 1. 21041.
<https://doi.org/10.1038/s41598-025-04295-8>
73. Patel A.B. Simple and rapid colorimetric method for determination of erythrocyte and plasma cholinesterase activities and comparison with the standard Ellman's method. *Publ. Health Toxicol.* 2023. Vol. 3. No. 3. Pp. 1–10.
<https://doi.org/10.18332/pht/172229>
74. Xie Y., Hou Y., Hu M. et al. Dual monitoring of blood acetylcholinesterase content and catalytic activity utilizing fluorometry-integrated surface plasmon resonance. *Biosensors (Basel).* 2025. Vol. 15. No. 2. 118. <https://doi.org/10.3390/bios15020118>

75. Bartels C.F., Zelinski T., Lockridge O. Mutation at codon 322 in the human acetylcholinesterase (ACHE) gene accounts for YT blood group polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 1993. Vol. 52. No. 5. Pp. 928–936.
76. Masson P., Froment M.T., Sorenson R.C. et al. Mutation His322Asn in human acetylcholinesterase does not alter electrophoretic and catalytic properties of the erythrocyte enzyme. *Blood.* 1994. Vol. 83. No. 10. Pp. 3003–3005.
77. Ehrlich G., Ginzberg D., Loewenstein Y. et al. Population diversity and distinct haplotype frequencies associated with ACHE and BCHE genes of Israeli Jews from trans-Caucasian Georgia and from Europe. *Genomics.* 1994. Vol. 22. No. 2. Pp. 288–295. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1386>
78. Shinohara K., Tanaka K.R. Hereditary deficiency of erythrocyte acetylcholinesterase. *Am. J. Hematol.* 1979. Vol. 7. No. 4. Pp. 313–321. <https://doi.org/10.1002/ajh.2830070403>
79. Brimijoin S., Hammond P. Butyrylcholinesterase in human brain and acetylcholinesterase in human plasma: trace enzymes measured by two-site immunoassay. *J. Neurochem.* 1988. Vol. 51. No. 4. Pp. 1227–1231. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1988.tb03091.x>
80. García-Ayllón M.S., Riba-Llena I., Serra-Basante C. et al. Altered levels of acetylcholinesterase in Alzheimer plasma. *PLoS One.* 2010. Vol. 5. No. 1. e8701. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008701>
81. Li B., Sedlacek M., Manoharan I. et al. Butyrylcholinesterase, paraoxonase, and albumin esterase, but not carboxylesterase, are present in human plasma. *Biochem. Pharmacol.* 2005. Vol. 70. No. 11. Pp. 1673–1684. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.09.002>
82. Allderdice P.W., Gardner H.A., Galutira D. et al. The cloned butyrylcholinesterase (BCHE) gene maps to a single chromosome site, 3q26. *Genomics.* 1991. Vol. 11. No. 2. Pp. 452–454. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(91\)90154-7](https://doi.org/10.1016/0888-7543(91)90154-7)
83. Schopfer L.M., Delacour H., Masson P. et al. The C5 variant of the butyrylcholinesterase tetramer includes a noncovalently bound 60 kDa lamellipodin fragment. *Molecules.* 2017. Vol. 22. No. 7. 1083. <https://doi.org/10.3390/molecules22071083>
84. Leung M.R., van Bezouwen L.S., Schopfer L.M. et al. Cryo-EM structure of the native butyrylcholinesterase tetramer reveals a dimer of dimers stabilized by a superhelical assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2018. Vol. 115. No. 52. Pp. 13270–13275. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817009115>
85. Malik A.A., Ojha S.C., Schaduangrat N. et al. ABCpred: a webserver for the discovery of acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors. *Mol. Divers.* 2022. Vol. 26. No. 1. Pp. 467–487. <https://doi.org/10.1007/s11030-021-10292-6>
86. Saxena A., Redman A.M., Jiang X. et al. Differences in active site gorge dimensions of cholinesterases revealed by binding of inhibitors to human butyrylcholinesterase. *Biochemistry.* 1997. Vol. 36. No. 48. Pp. 14642–14651. <https://doi.org/10.1021/bi971425+>
87. Nicolet Y., Lockridge O., Masson P. et al. Crystal structure of human butyrylcholinesterase and of its complexes with substrate and products. *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. No. 42. Pp. 41141–41147. <https://doi.org/10.1074/jbc.M210241200>

88. Khanna R., Morton C.L., Danks M.K. et al. Proficient metabolism of irinotecan by a human intestinal carboxylesterase. *Cancer Res.* 2000. Vol. 60. No. 17. Pp. 4725–4728.
89. Masson P., Shaihutdinova Z., Lockridge O. Drug and pro-drug substrates and pseudo-substrates of human butyrylcholinesterase. *Biochem. Pharmacol.* 2023. Vol. 218. 115910. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115910>
90. Masson P., Lockridge O. Butyrylcholinesterase for protection from organophosphorus poisons: catalytic complexities and hysteretic behavior. *Arch. Biochem. Biophys.* 2010. Vol. 494. No. 2. Pp. 107–120. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2009.12.005>
91. Roomfield C.A., Maxwell D.M., Solana R.P. et al. Protection by butyrylcholinesterase against organophosphorus poisoning in nonhuman primates. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1991. Vol. 259. No. 2. Pp. 633–638.
92. Doctor B.P., Saxena A. Bioscavengers for the protection of humans against organophosphate toxicity. *Chem. Biol. Interact.* 2005. Vol. 157–158. Pp. 167–171. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.10.024>
93. Palikov V.A., Terekhov S.S., Palikova Y.A. et al. Mouse Model for Assessing the Subchronic Toxicity of Organophosphate Pesticides. *Acta Natur.* 2018. Vol. 10. No. 4. Pp. 125–128.
94. Schopfer L.M., Lockridge O., Brimijoin S. Pure human butyrylcholinesterase hydrolyzes octanoyl ghrelin to desacyl ghrelin. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2015. Vol. 224. Pp. 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.05.017>
95. Xing S., Li Q., Xiong B. et al. Structure and therapeutic uses of butyrylcholinesterase: application in detoxification, Alzheimer's disease, and fat metabolism. *Med. Res. Rev.* 2021. Vol. 41. No. 2. Pp. 858–901. <https://doi.org/10.1002/med.21745>
96. Dorling J.L., Clayton D.J., Jones J. et al. A randomized crossover trial assessing the effects of acute exercise on appetite, circulating ghrelin concentrations, and butyrylcholinesterase activity in normal weight males with variants of the obesity-linked FTO rs9939609 polymorphism. *Am. J. Clin. Nutr.* 2019. Vol. 110. No. 5. Pp. 1055–1066. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz188>
97. Karra E., O'Daly O.G., Choudhury A.I. et al. A link between FTO, ghrelin, and impaired brain food-cue responsiveness. *J. Clin. Invest.* 2013. Vol. 123. No. 8. Pp. 3539–3551. <https://doi.org/10.1172/JCI44403>
98. Brimijoin S., Chen V.P., Pang Y.P. et al. Physiological roles for butyrylcholinesterase: A BChE-ghrelin axis. *Chem. Biol. Interact.* 2016. Vol. 259. Pt. B. Pp. 271–275. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.02.013>
99. Gok M., Cicek C., Bodur E. Butyrylcholinesterase in lipid metabolism: A new outlook. *J. Neurochem.* 2024. Vol. 168. No. 4. Pp. 381–385. <https://doi.org/10.1111/jnc.15833>
100. Chen Y., Black D.S., Reilly P.J. Carboxylic ester hydrolases: classification and database derived from their primary, secondary, and tertiary structures. *Protein Sci.* 2016. Vol. 25. No. 11. Pp. 1942–1953. <https://doi.org/10.1002/pro.3016>
101. Nguyen P.T.V., Huynh H.A., Truong D.V. et al. Exploring aurone derivatives as potential human pancreatic lipase inhibitors through molecular docking and molecular dynamics simulations. *Molecules.* 2020. Vol. 25. No. 20. 4657. <https://doi.org/10.3390/molecules25204657>

102. Yadav N., Paul A.T. Pancreatic lipase and its related proteins: where are we now? *Drug Discov. Today*. 2024. Vol. 29. No. 1. 103855.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103855>
103. Radić Z. Connectivity between surface and interior in catalytic subunits of acetylcholinesterases inferred from their X-ray structures. *J. Neurochem*. 2024. Vol. 168. No. 4. Pp. 386–396. <https://doi.org/10.1111/jnc.15802>
104. Akimov M.G., Kudryavtsev D.S., Kryukova E.V. et al. Arachidonoylcholine and other unsaturated long-chain acylcholines are endogenous modulators of the acetylcholine signaling system. *Biomolecules*. 2020. Vol. 10. No. 2. 283.
<https://doi.org/10.3390/biom10020283>
105. Yang Z.P., Dettbarn W.D. Prevention of tolerance to the organophosphorus anticholinesterase paraoxon with carboxylesterase inhibitors. *Biochem. Pharmacol*. 1998. Vol. 55. No. 9. Pp. 1419–1426. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(97\)00650-3](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(97)00650-3)
106. Duysen E.G., Li B., Xie W. et al. Evidence for nonacetylcholinesterase targets of organophosphorus nerve agent: supersensitivity of acetylcholinesterase knockout mouse to VX lethality. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2001. Vol. 299. No. 2. Pp. 528–535.
107. Manoharan I., Boopathy R., Darvesh S. et al. A medical health report on individuals with silent butyrylcholinesterase in the Vysya community of India. *Clin. Chim. Acta*. 2007. Vol. 378. No. 1–2. Pp. 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.11.005>
108. Liu Y., Li J., Zhu H.J. Regulation of carboxylesterases and its impact on pharmacokinetics and pharmacodynamics: an up-to-date review. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol*. 2024. Vol. 20. No. 5. Pp. 377–397.
<https://doi.org/10.1080/17425255.2024.2348491>
109. Nagaoka M., Sakai Y., Nakajima M. et al. Role of carboxylesterase and arylacetamide deacetylase in drug metabolism, physiology, and pathology. *Biochem. Pharmacol*. 2024. Vol. 223. 116128. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116128>
110. Orcholski M.E., Khurshudyan A., Shamshou E.A. et al. Reduced carboxylesterase 1 is associated with endothelial injury in methamphetamine-induced pulmonary arterial hypertension. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol*. 2017. Vol. 313. No. 2. Pp. L252–L266. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00453.2016>
111. Imai T., Ohura K. The role of intestinal carboxylesterase in the oral absorption of prodrugs. *Curr. Drug Metab*. 2010. Vol. 11. No. 9. Pp. 793–805.
<https://doi.org/10.2174/138920010794328904>
112. Sanghani S.P., Sanghani P.C., Schiel M.A. et al. Human carboxylesterases: an update on CES1, CES2 and CES3. *Protein Pept. Lett*. 2009. Vol. 16. No. 10. Pp. 1207–1214.
113. Holmes R.S., Cox L.A., VandeBerg J.L. Mammalian carboxylesterase 3: comparative genomics and proteomics. *Genetica*. 2010. Vol. 138. No. 7. Pp. 695–708.
<https://doi.org/10.1007/s10709-010-9438-z>
114. Imai T. Human carboxylesterase isozymes: catalytic properties and rational drug design. *Drug Metab. Pharmacokinet*. 2006. Vol. 21. No. 3. Pp. 173–185.
<https://doi.org/10.2133/dmpk.21.173>
115. Wang D., Zou L., Jin Q. et al. Human carboxylesterases: a comprehensive review. *Acta Pharm. Sin. B*. 2018. Vol. 8. No. 5. Pp. 699–712.
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2018.05.005>

116. Ribone S.R., Estrin D.A., Quevedo M.A. Exploring human carboxylesterases 1 and 2 selectivity of two families of substrates at an atomistic level. *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteom.* 2025. Vol. 1873. No. 4. 141069. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2025.141069>
117. Zhang J., Burnell J.C., Dumauval N. et al. Binding and hydrolysis of meperidine by human liver carboxylesterase hCE-1. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999. Vol. 290. No. 1. Pp. 314–318. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(94\)90461-8](https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90461-8)
118. Tabata T., Katoh M., Tokudome S. et al. Identification of the cytosolic carboxylesterase catalyzing the 5'-deoxy-5-fluorocytidine formation from capecitabine in human liver. *Drug Metab. Dispos.* 2004. Vol. 32. No. 10. Pp. 1103–1110. <https://doi.org/10.1124/dmd.104.000554>
119. Mutch E., Nave R., McCracken N. et al. The role of esterases in the metabolism of ciclesonide to desisobutyryl-ciclesonide in human tissue. *Biochem. Pharmacol.* 2007. Vol. 73. No. 10. Pp. 1657–1664. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.01.031>
120. Matsumoto N., Kubota Y., Ishida H. et al. Variants of carboxylesterase 1 have no impact on capecitabine pharmacokinetics and toxicity in capecitabine plus oxaliplatin treated-colorectal cancer patients. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2020. Vol. 85. No. 6. Pp. 1119–1128. <https://doi.org/10.1007/s00280-020-04087-z>
121. Brzezinski M.R., Abraham T.L., Stone C.L. et al. Purification and characterization of a human liver cocaine carboxylesterase that catalyzes the production of benzoylecgonine and the formation of cocaethylene from alcohol and cocaine. *Biochem. Pharmacol.* 1994. Vol. 48. No. 9. Pp. 1747–1755. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(94\)90461-8](https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90461-8)
122. Shi J., Xiao J., Wang X. et al. Plasma Carboxylesterase 1 Predicts Methylphenidate Exposure: A Proof-of-Concept Study Using Plasma Protein Biomarker for Hepatic Drug Metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2022. Vol. 111. No. 4. Pp. 878–885. <https://doi.org/10.1002/cpt.2486>
123. Zhu H.J., Markowitz J.S. Activation of the antiviral prodrug oseltamivir is impaired by two newly identified carboxylesterase 1 variants. *Drug Metab. Dispos.* 2009. Vol. 37. No. 2. Pp. 264–267. <https://doi.org/10.1124/dmd.108.024943>
124. Shi D., Yang J., Yang D. et al. Anti-influenza prodrug oseltamivir is activated by carboxylesterase human carboxylesterase 1, and the activation is inhibited by antiplatelet agent clopidogrel. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006. Vol. 319. No. 3. Pp. 1477–1484. <https://doi.org/10.1124/jpet.106.111807>
125. Zhu H.J., Appel D.I., Johnson J.A. et al. Role of carboxylesterase 1 and impact of natural genetic variants on the hydrolysis oftrandolapril. *Biochem. Pharmacol.* 2009. Vol. 77. No. 7. Pp. 1266–1272. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.12.017>
126. Liu J., He Y., Lwin C. et al. Neuropathy target esterase activity defines phenotypes among PNPLA6 disorders. *Brain.* 2024. Vol. 147. No. 6. Pp. 2085–2097. <https://doi.org/10.1093/brain/awae055>
127. Humerickhouse R., Lohrbach K., Li L. et al. Characterization of CPT-11 hydrolysis by human liver carboxylesterase isoforms hCE-1 and hCE-2. *Cancer Res.* 2000. Vol. 60. No. 5. Pp. 1189–1192.

128. Kailass K., Casalena D., Jenane L. et al. Tight-Binding Small-Molecule Carboxylesterase 2 Inhibitors Reduce Intracellular Irinotecan Activation. *J. Med. Chem.* 2024. Vol. 67. No. 3. Pp. 2019–2030. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c01850>
129. Ross M.K., Borazjani A., Edwards C.C. et al. Hydrolytic metabolism of pyrethroids by human and other mammalian carboxylesterases. *Biochem. Pharmacol.* 2006. Vol. 71. No. 5. Pp. 657–669. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.11.020>
130. Lei W., Wang D.D., Dou T.Y. et al. Assessment of the inhibitory effects of pyrethroids against human carboxylesterases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2017. Vol. 321. Pp. 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.02.018>
131. Mukherjee S., Choi M., Yun J.W. Novel regulatory roles of carboxylesterase 3 in lipid metabolism and browning in 3T3-L1 white adipocytes. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2019. Vol. 44. No. 10. Pp. 1089–1098. <https://doi.org/10.1139/apnm-2018-0814>
132. Maxwell D.M., Brecht K., Saxena A. et al. Comparison of Cholinesterases and Carboxylesterase as Bioscavengers for Organophosphorus Compounds. In: B.P. Doctor, P. Taylor, D.M. Quinn et al. (eds.). *Structure and Function of Cholinesterases and Related Proteins*. Boston: Springer, 1998. Pp. 109–116. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1540-5_109
133. Satoh T., Hosokawa M. Structure, function and regulation of carboxylesterases. *Chem. Biol. Interact.* 2006. Vol. 162. No. 3. Pp. 195–211. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.07.001>
134. Maxwell D.M., Brecht K.M. Carboxylesterase: specificity and spontaneous reactivation of an endogenous scavenger for organophosphorus compounds. *J. Appl. Toxicol.* 2001. Vol. 21. Suppl. 1. Pp. S103–S107. <https://doi.org/10.1002/jat.833>
135. Jokanović M. Metabolism of Warfare Nerve Agents. In: R.C. Gupta (ed.). *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents*. Academic Press, 2009. Pp. 799–810. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374484-8.00052-3>
136. Maxwell D.M., Lenz D.E., Groff W.A. et al. The effects of blood flow and detoxification on in vivo cholinesterase inhibition by soman in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1987. Vol. 88. No. 1. Pp. 66–76. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(87\)90270-5](https://doi.org/10.1016/0041-008X(87)90270-5)
137. Maxwell D.M., Brecht K.M., O'Neill B.L. The effect of carboxylesterase inhibition on interspecies differences in soman toxicity. *Toxicol. Lett.* 1987. Vol. 39. No. 1. Pp. 35–42.
138. Block W., Arndt R. Chromatographic study on the specificity of bis-p-nitrophenylphosphate in vivo. Identification of labeled proteins of rat liver after intravenous injection of bis-p-nitro[¹⁴C]phenylphosphate as carboxylesterases and amidases. *Biophys. Acta.* 1978. Vol. 524. No. 1. Pp. 85–93. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(78\)90106-7](https://doi.org/10.1016/0005-2744(78)90106-7)
139. Wadkins R.M., Hyatt J.L., Wei X. et al. Identification and characterization of novel benzil (diphenylethane-1,2-dione) analogues as inhibitors of mammalian carboxylesterases. *J. Med. Chem.* 2005. Vol. 48. No. 8. Pp. 2906–2915. <https://doi.org/10.1021/jm049011j>
140. Lewoń-Mrozek D., Kurzynoga J., Jędrzejewski P. et al. Molecular Structure of Paraoxonase-1 and Its Modifications in Relation to Enzyme Activity and Biological Functions – A Comprehensive Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2024. Vol. 25. No. 23. 13129. <https://doi.org/10.3390/ijms252313129>

141. Draganov D.I., Teiber J.F., Speelman A. et al. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J. Lipid Res.* 2005. Vol. 46. No. 6. Pp. 1239–1247. <https://doi.org/10.1194/jlr.M400511-JLR200>
142. Gan K.N., Smolen A., Eckerson H.W. et al. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab. Dispos.* 1991. Vol. 19. No. 1. Pp. 100–106.
143. Jakubowski H. Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylolation. *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. No. 6. Pp. 3957–3962. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.6.3957>
144. Jakubowski H., Ambrosius W.T., Pratt J.H. Genetic determinants of homocysteine thiolactonase activity in humans: implications for atherosclerosis. *FEBS Lett.* 2001. Vol. 491. No. 1–2. Pp. 35–39. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(01\)02143-3](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(01)02143-3)
145. Jakubowski H., Witucki Ł. Homocysteine metabolites, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2025. Vol. 26. No. 2. 746. <https://doi.org/10.3390/ijms26020746>
146. Jakubowski H. The molecular bases of anti-oxidative and anti-inflammatory properties of paraoxonase 1. *Antioxidants (Basel)*. 2024. Vol. 13. No. 11. 1292. <https://doi.org/10.3390/antiox13111292>
147. Billecke S., Draganov D., Counsell R. et al. Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab. Dispos.* 2000. Vol. 28. No. 11. Pp. 1335–1342.
148. Teiber J.F., Xiao J., Kramer G.L. et al. Identification of biologically active δ -lactone eicosanoids as paraoxonase substrates. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018. Vol. 505. No. 1. Pp. 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.09.083>
149. Harel M., Brumshtein B., Meged R. et al. 3-D structure of serum paraoxonase 1 sheds light on its activity, stability, solubility and crystallizability. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* 2007. Vol. 58. No. 3. Pp. 347–353. <https://doi.org/10.2478/v10004-007-0028-0>
150. Lin B.B., Su H., Ma G.C. et al. Theoretical study of the hydrolysis mechanism of dihydrocoumarin catalyzed by serum paraoxonase 1 (PON1): different roles of Glu53 and His115 for catalysis. *RSC Adv.* 2016. Vol. 6. Pp. 60376–60384.
151. Mackness M., Mackness B. Human paraoxonase-1 (PON1): gene structure, expression, promiscuous activities and multiple physiological roles. *Gene.* 2015. Vol. 567. No. 1. Pp. 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.04.088>
152. Şahin B., Çenesiz S. The effect of mercury, copper, and zinc on paraoxonase (PON) enzyme activity in bonito (*Sarda sarda*) fish. *Ege J. Fish. Aquat. Sci.* 2021. Vol. 38. Pp. 479–486. <https://doi.org/10.12714/egejfas.38.4.09>
153. Smerkolj J., Bahun M., Poklar Ulrih N. et al. Slow binding modulation of paraoxonase 1 activity with terbium ions. *Chem. Biol. Interact.* 2025. Vol. 420. 111708. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2025.111708>
154. Shunmoogam N., Naidoo P., Chilton R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance. *Vasc. Health Risk Manag.* 2018. Vol. 14. Pp. 137–143. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S165173>

155. Brophy V.H., Jampsa R.L., Clendenning J.B. et al. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (PON1) expression. *Am. J. Hum. Genet.* 2001. Vol. 68. No. 6. Pp. 1428–1436. <https://doi.org/10.1086/320600>
156. Sudhan M., Janakiraman V., Ahmad S.F. et al. Structural characteristics of PON1 with Leu55Met and Gln192Arg variants influencing oxidative-stress-related diseases: an integrated molecular modeling and dynamics study. *Medicina (Kaunas).* 2023. Vol. 59. No. 12. 2060. <https://doi.org/10.3390/medicina59122060>
157. Davies H.G., Richter R.J., Keifer M. et al. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nat. Genet.* 1996. Vol. 14. No. 3. Pp. 334–336. <https://doi.org/10.1038/ng1196-334>
158. Филиппова Ю.Е., Малишевская Т.Н., Петров С.А. и др. Ферментативная активность параоксоназы в зависимости от полиморфизма Q192R гена PON1 у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. *Вестник офтальмологии.* 2022. Т. 138. № 2. С. 58–64. <https://doi.org/10.17116/oftalma202213802158>
159. Li W.F., Costa L.G., Richter R.J. et al. Catalytic efficiency determines the in-vivo efficacy of PON1 for detoxifying organophosphorus compounds. *Pharmacogenetics.* 2000. Vol. 10. No. 9. Pp. 767–779. <https://doi.org/10.1097/00008571-200012000-00002>
160. Mackness B., Durrington P., Povey A. et al. Paraoxonase and susceptibility to organophosphorus poisoning in farmers dipping sheep. *Pharmacogenetics.* 2003. Vol. 13. No. 2. Pp. 81–88. <https://doi.org/10.1097/00008571-200302000-00004>
161. Mackness B., Davies G.K., Turkie W. et al. Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001. Vol. 21. No. 9. Pp. 1451–1457. <https://doi.org/10.1161/hq0901.094247>
162. Gur M., Aslan M., Yildiz A. et al. Paraoxonase and arylesterase activities in coronary artery disease. *Eur. J. Clin. Invest.* 2006. Vol. 36. No. 11. Pp. 779–787. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2006.01727.x>
163. Sentí M., Tomás M., Marrugat J. et al. Paraoxonase1-192 polymorphism modulates the nonfatal myocardial infarction risk associated with decreased HDLs. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001. Vol. 21. No. 3. Pp. 415–420. <https://doi.org/10.1161/01.atv.21.3.415>
164. Ashiq S., Ashiq K. The Role of Paraoxonase 1 (PON1) Gene Polymorphisms in Coronary Artery Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biochem. Genet.* 2021. Vol. 59. No. 4. Pp. 919–939. <https://doi.org/10.1007/s10528-021-10043-0>
165. Elias M., Tawfik D.S. Divergence and convergence in enzyme evolution: parallel evolution of paraoxonases from quorum-quenching lactonases. *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 287. No. 1. Pp. 11–20. <https://doi.org/10.1074/jbc.R111.257329>
166. Gorelik A., Illes K., Mazhab-Jafari M.T. et al. Structure of the immunoregulatory sialidase NEU1. *Sci. Adv.* 2023. Vol. 9. No. 20. eadf8169. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adf8169>
167. Wu D., Li Y., Song G. et al. Crystal structure of human esterase D: a potential genetic marker of retinoblastoma. *FASEB J.* 2009. Vol. 23. No. 5. Pp. 1441–1446. <https://doi.org/10.1096/fj.08-125286>
168. Tsuchida S., Fukui E., Ikemoto S. Molecular analysis of esterase D polymorphism. *Hum. Genet.* 1994. Vol. 93. No. 3. Pp. 255–258. <https://doi.org/10.1007/BF00212018>

169. Hopkinson D.A., Mestriner M.A., Cortner J. et al. Esterase D: a new human polymorphism. *Ann. Hum. Genet.* 1973. Vol. 37. No. 2. Pp. 119–137. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1973.tb01820.x>
170. Sparkes R.S., Murphree A.L., Lingua R.W. et al. Gene for hereditary retinoblastoma assigned to human chromosome 13 by linkage to esterase D. *Science.* 1983. Vol. 219. No. 4587. Pp. 971–973. <https://doi.org/10.1126/science.6823558>
171. Okunuki Y., Usui Y., Kezuka T. et al. Proteomic surveillance of retinal autoantigens in endogenous uveitis: implication of esterase D and brain-type creatine kinase as novel autoantigens. *Mol. Vis.* 2008. Vol. 14. Pp. 1094–1104.
172. Imai T., Isozaki M., Ohura K. Esterases involved in the rapid bioconversion of esmolol after intravenous injection in humans. *Biol. Pharm. Bull.* 2022. Vol. 45. No. 10. Pp. 1544–1552. <https://doi.org/10.1248/bpb.b22-00468>
173. Lee W.H., Wheatley W., Benedict W.F. et al. Purification, biochemical characterization, and biological function of human esterase D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1 Housing. 83. No. 18. Pp. 6790–6794. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.18.6790>
174. Nandakumar M., Sathyapalan T., Butler A.E. et al. Oxidative stress markers and heat shock proteins in non-obese women with polycystic ovary syndrome are not elevated and show no correlation with vitamin D. *Biomedicines.* 2023. Vol. 11. No. 7. 2044. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11072044>
175. Li W., Zhu Z., Cao W. et al. Esterase D enhances type I interferon signal transduction to suppress foot-and-mouth disease virus replication. *Mol. Immunol.* 2016. Vol. 75. Pp. 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2016.05.016>
176. Wang S., Han W., Zhao B. et al. Activating esterase D by PFD5 exerts antiviral effect through inhibiting glutathionization of LAMP1 during senecavirus A infection. *Microb. Pathog.* 2025. Vol. 198. 107148. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.107148>
177. Potter A.J., Kidd S.P., Edwards J.L. et al. Esterase D is essential for protection of *Neisseria gonorrhoeae* against nitrosative stress and for bacterial growth during interaction with cervical epithelial cells. *J. Infect. Dis.* 2009. Vol. 200. No. 2. Pp. 273–278. <https://doi.org/10.1086/599987>
178. Smith K.S., Jakubzick C., Whittam T.S. et al. Carbonic anhydrase is an ancient enzyme widespread in prokaryotes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. No. 26. Pp. 15184–15189. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.26.15184>
179. Ozensoy Guler O., Capasso C., Supuran C.T. A magnificent enzyme superfamily: carbonic anhydrases, their purification and characterization. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2016. Vol. 31. No. 5. Pp. 689–694. <https://doi.org/10.3109/14756366.2015.1059333>
180. Dodgson S.J., Forster R.E. 2nd. Carbonic anhydrase activity of intact erythrocytes from seven mammals. *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exerc. Physiol.* 1983. Vol. 55. No. 4. Pp. 1292–1298. <https://doi.org/10.1152/jappl.1983.55.4.1292>
181. Chafik A., Essamadi A., Çelik S.Y. et al. Purification and biochemical characterization of a novel carbonic anhydrase II from erythrocytes of camel (*Camelus dromedarius*). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2023. Vol. 676. Pp. 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.07.055>

182. Thorslund A., Lindskog S. Studies of the esterase activity and the anion inhibition of bovine zinc and cobalt carbonic anhydrases. *Eur. J. Biochem.* 1967. Vol. 3. No. 1. Pp. 117–123. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1967.tb19504.x>
183. Gould S.M., Tawfik D.S. Directed evolution of the promiscuous esterase activity of carbonic anhydrase II. *Biochemistry.* 2005. Vol. 44. No. 14. Pp. 5444–5452. <https://doi.org/10.1021/bi0475471>
184. Maresca A., Temperini C., Pochet L. et al. Deciphering the mechanism of carbonic anhydrase inhibition with coumarins and thiocoumarins. *J. Med. Chem.* 2010. Vol. 53. No. 1. Pp. 335–344. <https://doi.org/10.1021/jm901287j>
185. Lopez M., Vu H., Wang C.K. et al. Promiscuity of carbonic anhydrase II. Unexpected ester hydrolysis of carbohydrate-based sulfamate inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.* 2011. Vol. 133. No. 45. Pp. 18452–18462. <https://doi.org/10.1021/ja207855c>
186. Sjöblom B., Polentarutti M., Djinovic-Carugo K. Structural study of X-ray induced activation of carbonic anhydrase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. Vol. 106. No. 26. Pp. 10609–10613. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904184106>
187. Piazzetta P., Marino T., Russo N. Mechanistic Explanation of the Weak Carbonic Anhydrase’s Esterase Activity. *Molecules.* 2017. Vol. 22. No. 6. 1009. <https://doi.org/10.3390/molecules22061009>
188. Kim J.K., Lim S.W., Jeong H. et al. Fast product release requires active-site water dynamics in carbonic anhydrase. *Nat Commun.* 2025. Vol. 16. No. 1. 4404. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-59645-x>
189. Elleby B., Sjöblom B., Lindskog S. Changing the efficiency and specificity of the esterase activity of human carbonic anhydrase II by site-specific mutagenesis. *Eur. J. Biochem.* 1999. Vol. 262. No. 2. Pp. 516–521. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00400.x>
190. Höst G., Mårtensson L.G., Jonsson B.H. Redesign of human carbonic anhydrase II for increased esterase activity and specificity towards esters with long acyl chains. *Biochim. Biophys. Acta.* 2006. Vol. 1764. No. 10. Pp. 1601–1606. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2006.07.010>
191. Esmaeili S., Ashrafi-Kooshk M.R., Adibi H. et al. Captopril/enalapril inhibit promiscuous esterase activity of carbonic anhydrase at micromolar concentrations: An in vitro study. *Chem. Biol. Interact.* 2017. Vol. 265. Pp. 24–35. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.01.014>
192. Karaçelik A.A., Küçük M., Türkuçar S.A. et al. Common Food Additives Inhibit Carbonic Anhydrase Activity. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2025. Vol. 39. No. 9. e70444. <https://doi.org/10.1002/jbt.70444>
193. Gambhir K.K., Ornasir J., Headings V. et al. Decreased Total Carbonic Anhydrase Esterase Activity and Decreased Levels of Carbonic Anhydrase 1 Isoenzyme in Erythrocytes of Type II Diabetic Patients. *Biochem. Genet.* 2007. Vol. 45. No. 5–6. Pp. 431–439. <https://doi.org/10.1007/s10528-007-9086-x>
194. Quistad G.B., Barlow C., Winrow C.J. et al. Evidence That Mouse Brain Neuropathy Target Esterase Is a Lysophospholipase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. Vol. 100. No. 13. Pp. 7983–7987. <https://doi.org/10.1073/pnas.1232473100>

195. Van Tienhoven M., Atkins J., Li Y. et al. Human Neuropathy Target Esterase Catalyzes Hydrolysis of Membrane Lipids. *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. No. 23. Pp. 20942–20948. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200330200>
196. Read D.J., Li Y., Chao M.V. et al. Neuropathy Target Esterase Is Required for Adult Vertebrate Axon Maintenance. *J. Neurosci.* 2009. Vol. 29. No. 37. Pp. 11594–11600. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3007-09.2009>
197. Song F., Xie K. Calcium-Dependent Neutral Cysteine Protease and Organophosphate-Induced Delayed Neuropathy. *Chem. Biol. Interact.* 2012. Vol. 200. No. 2–3. Pp. 114–118. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2012.10.001>
198. Lotti M., Moretto A. Organophosphate-Induced Delayed Polyneuropathy. *Toxicol. Rev.* 2005. Vol. 24. No. 1. Pp. 37–49. <https://doi.org/10.2165/00139709-200524010-00003>
199. Peraica M., Capodicasa E., Moretto A. et al. Organophosphate Polyneuropathy in Chicks. *Biochem. Pharmacol.* 1993. Vol. 45. No. 1. Pp. 131–135. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(93\)90385-a](https://doi.org/10.1016/0006-2952(93)90385-a)
200. Bertocin D., Russolo A., Caroldi S. et al. Neuropathy Target Esterase in Human Lymphocytes. *Arch. Environ. Health.* 1985. Vol. 40. No. 3. Pp. 139–144. <https://doi.org/10.1080/00039896.1985.10545905>
201. Maroni M., Bleecker M.L. Neuropathy Target Esterase in Human Lymphocytes and Platelets. *J. Appl. Toxicol.* 1986. Vol. 6. No. 1. Pp. 1–7. <https://doi.org/10.1002/jat.2550060102>
202. Tsap M.I., Yatsenko A.S., Hegermann J. et al. Unraveling the Link Between Neuropathy Target Esterase NTE/SWS, Lysosomal Storage Diseases, Inflammation, Abnormal Fatty Acid Metabolism, and Leaky Brain Barrier. *eLife.* 2024. Vol. 13. e98020. <https://doi.org/10.7554/eLife.98020>
203. Li Y., Dinsdale D., Glynn P. Protein Domains, Catalytic Activity, and Subcellular Distribution of Neuropathy Target Esterase in Mammalian Cells. *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. No. 10. Pp. 8820–8825. <https://doi.org/10.1074/jbc.M210743200>
204. Chang P., He L., Wang Y. et al. Characterization of the Interaction of Neuropathy Target Esterase with the Endoplasmic Reticulum and Lipid Droplets. *Biomolecules.* 2019. Vol. 9. No. 12. 848. <https://doi.org/10.3390/biom9120848>
205. Atkins J., Glynn P. Membrane Association of and Critical Residues in the Catalytic Domain of Human Neuropathy Target Esterase. *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. No. 32. Pp. 24477–24483. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002921200>
206. Wu W., Wang P. Computational Modeling Study of the Binding of Aging and Non-Aging Inhibitors with Neuropathy Target Esterase. *Molecules.* 2023. Vol. 28. No. 23. 7747. <https://doi.org/10.3390/molecules28237747>
207. Varadi M., Bertoni D., Magana P. et al. AlphaFold Protein Structure Database in 2024: Providing Structure Coverage for Over 214 Million Protein Sequences. *Nucleic Acids Res.* 2024. Vol. 52. Iss. D1. Pp. D368–D375. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad1011>
208. Synofzik M., Hufnagel R.B., Züchner S. PNPLA6 Disorders. *GeneReviews®* [Internet]. University of Washington, 2025. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK247161> (Accessed: 08.11.2025).

209. Kretzschmar D. PNPLA6/NTE, an Evolutionarily Conserved Phospholipase Linked to a Group of Complex Human Diseases. *Metabolites*. 2022. Vol. 12. No. 4. 284. <https://doi.org/10.3390/metabo12040284>
210. Lush M.J., Li Y., Read D.J. et al. Neuropathy Target Esterase and a Homologous Drosophila Neurodegeneration-Associated Mutant Protein Contain a Novel Domain Conserved from Bacteria to Man. *Biochem. J.* 1998. Vol. 332. Pt. 1. Pp. 1–4. <https://doi.org/10.1042/bj3320001>
211. Kretzschmar D., Hasan G., Sharma S. et al. The swiss cheese mutant causes glial hyperwrapping and brain degeneration in Drosophila. *J. Neurosci.* 1997. Vol. 17. No. 19. Pp. 7425–7432. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-19-07425.1997>
212. Bettencourt da Cruz A., Wentzell J., Kretzschmar D. Swiss Cheese, a protein involved in progressive neurodegeneration, acts as a noncanonical regulatory subunit for PKA-C3. *J. Neurosci.* 2008. Vol. 28. No. 43. Pp. 10885–10892. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3015-08.2008>
213. Fasano M., Curry S., Terreno E. et al. The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin. *IUBMB Life*. 2006. Vol. 57. No. 12. Pp. 787–796. <https://doi.org/10.1080/15216540500404093>
214. van der Vusse G.J. Albumin as fatty acid transporter. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2009. Vol. 24. No. 4. Pp. 300–307. <https://doi.org/10.2133/dmpk.24.300>
215. Sudlow G., Birkett D.J., Wade D.N. Further characterization of specific drug binding sites on human serum albumin. *Mol. Pharmacol.* 1976. Vol. 12. No. 6. Pp. 1052–1061.
216. Zsila F. Subdomain IB is the third major drug binding region of human serum albumin: toward the three-sites model. *Mol. Pharm.* 2013. Vol. 10. No. 5. Pp. 1668–1682. <https://doi.org/10.1021/mp400027q>
217. Petitpas I., Petersen C.E., Ha C.E. et al. Structural basis of albumin-thyroxine interactions and familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003. Vol. 100. No. 11. Pp. 6440–6445. <https://doi.org/10.1073/pnas.1137188100>
218. Belinskaia D.A., Voronina P.A., Shmurak V.I. et al. The Universal Soldier: Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant Functions of Serum Albumin. *Antioxidants (Basel)*. 2020. Vol. 9. No. 10. 966. <https://doi.org/10.3390/antiox9100966>
219. Qiu H.Y., Hou N.N., Shi J.F. et al. Comprehensive overview of human serum albumin glycation in diabetes mellitus. *World J. Diabetes*. 2021. Vol. 12. No. 7. Pp. 1057–1069. <https://doi.org/10.4239/wjd.v12.i7.1057>
220. Belinskaia D.A., Voronina P.A., Vovk M.A. et al. Esterase Activity of Serum Albumin Studied by 1H NMR Spectroscopy and Molecular Modelling. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22. No. 19. 10593. <https://doi.org/10.3390/ijms221910593>
221. Belinskaia D.A., Batalova A.A., Voronina P.A. et al. Modulation of Albumin Esterase Activity by Warfarin and Diazepam. *Int. J. Mol. Sci.* 2024. Vol. 25. No. 21. 11543. <https://doi.org/10.3390/ijms252111543>
222. Баталова А.А. Модуляция связывающей и эстеразной активности сывороточного альбумина: дис. ... канд. биол. наук. Крым, 2023.
223. Belinskaia D.A., Koryagina N.L., Goncharov N.V. et al. Structure-Dependent Mechanism of Organophosphate Release from Albumin and Butyrylcholinesterase Adducts When Exposed to Fluoride Ion: A Comprehensive In Silico Study. *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24. No. 19. 14819. <https://doi.org/10.3390/ijms241914819>

224. He X.M., Carter D.C. Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature*. 1992. Vol. 358. No. 6383. Pp. 209–215. <https://doi.org/10.1038/358209a0>
225. Sakurai Y., Ma S.F., Watanabe H. et al. Esterase-like activity of serum albumin: characterization of its structural chemistry using p-nitrophenyl esters as substrates. *Pharm. Res.* 2004. Vol. 21. No. 2. Pp. 285–292. <https://doi.org/10.1023/b:pham.0000016241.84630.06>
226. Derelanko M. *The toxicologist's pocket handbook*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2008.

REFERENCES

1. Sokolovskaya L.G., Sigolaeva L.V., Eremenko A.V. et al. Semeystvo biosensornykh analizatorov dlya otsenki “esteraznogo statusa” organizma [A family of biosensor analyzers for assessing the “esterase status” of the organism]. *Khimicheskaya i biologicheskaya bezopasnost'*. 2004;1–2(13–14):21–31. (In Russ.)
2. Makhaeva G.F., Boltneva N.P., Lushchekina S.V. et al. Synthesis, molecular docking, and biological activity of 2-vinyl chromones: Toward selective butyrylcholinesterase inhibitors for potential Alzheimer's disease therapeutics. *Bioorg. Med. Chem.* 2018;**26**(16):4716–4725. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.08.010>
3. Belinskaia D.A., Voronina P.A., Popova P.I. et al. Albumin Is a Component of the Esterase Status of Human Blood Plasma. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;**24**(12):10383. <https://doi.org/10.3390/ijms241210383>
4. Goncharov N.V., Avdonin P.P., Voitenko N.G. et al. Searching for New Biomarkers to Assess COVID-19 Patients: A Pilot Study. *Metabolites*. 2023;**13**(12):1194. <https://doi.org/10.3390/metabo13121194>
5. Hajiasgharzadeh K., Khabbazi A., Mokhtarzadeh A. et al. Cholinergic anti-inflammatory pathway and connective tissue diseases. *Inflammopharmacology*. 2021;**29**(4):975–986. <https://doi.org/10.1007/s10787-021-00812-z>
6. Piovesana R., Salazar Intriago M.S., Dini L. et al. Cholinergic Modulation of Neuroinflammation: Focus on $\alpha 7$ Nicotinic Receptor. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;**22**(9):4912. <https://doi.org/10.3390/ijms22094912>
7. Simões J.L.B., Sobierai L.D., Leal I.F. et al. Action of the purinergic and cholinergic anti-inflammatory pathways on oxidative stress in patients with Alzheimer's disease in the context of the COVID-19 pandemic. *Neuroscience*. 2023;**512**:110–132. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2022.12.007>
8. Goncharov N.V., Belinskaya D.A., Razygraev A.V., Ukolov A.I. On the Enzymatic Activity of Albumin. *Bioorg. Khim.* 2015;**41**(2):131–144. <https://doi.org/10.1134/s1068162015020041>
9. Fuentes-Ugarte N., Pereira-Silva M., Cortes-Rubilar I. et al. How enzyme functions evolve: genetic, structural, and kinetic perspectives. *Biophys. Rev.* 2025;**17**(2):467–478. <https://doi.org/10.1007/s12551-025-01314-w>
10. Taler-Verčič A., Goličnik M., Bavac A. The Structure and Function of Paraoxonase-1 and Its Comparison to Paraoxonase-2 and -3. *Molecules*. 2020;**25**(24):5980. <https://doi.org/10.3390/molecules25245980>

11. Durrington P., Soran H. Paraoxonase 1: Evolution of the Enzyme and Its Role in Protecting Against Atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* 2024;**35**(4):171–178. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000936>
12. Richardson R.J., Hein N.D., Wijeyesakere S.J. et al. Neuropathy Target Esterase (NTE): Overview and Future. *Chem. Biol. Interact.* 2013;**203**(1):238–244. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2012.10.024>
13. Richardson R.J., Fink J.K., Glynn P. et al. Neuropathy Target Esterase (NTE/PNPLA6) and Organophosphorus Compound-Induced Delayed Neurotoxicity (OPIDN). *Adv. Neurotox.* 2020;**4**:1–78. <https://doi.org/10.1016/bs.ant.2020.01.001>
14. Sigolaeva L.V., Kurochkin I.N., Eremenko A.V. et al. Biosensory dlya analiza aktivnosti neyrotoksichnoy esterazy kak biomarkera toksicheskogo deystviya neyropatogennykh fosfororganicheskikh soyedineniy [Biosensors for the analysis of neurotoxic esterase activity as a biomarker of the toxic effect of neuropathogenic organophosphorus compounds]. *Ros. khim. zh. (Zh. Ros. khim. ob va im. D.I. Mendeleeva)*. 2004;**48**(4):65–72. (In Russ.)
15. Rudakova E.V., Serebryakova O.G., Boltneva N.P. et al. Biokhimicheskaya model' na myshakh dlya otsenki neyropatichnogo potentsiala fosfororganicheskikh soyedineniy [A biochemical model in mice for assessment of neuropathic potential of organophosphorus compounds]. *Toksikologicheskii vestnik = Toxicological Review*. 2012;**6**(117):20–24. (In Russ.)
16. Borhan B., Ko Y., Mackay C. et al. Development of surrogate substrates for neuropathy target esterase. *Biochim. Biophys. Acta.* 1995;**1250**(2):171–182. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(95\)00058-3](https://doi.org/10.1016/0167-4838(95)00058-3)
17. Winum J.Y., Colinas P. Carbonic Anhydrases as Esterases and Their Biotechnological Applications. In: Supuran C.T., de Simone G. (eds.). *Carbonic Anhydrases as Biocatalysts*. Amsterdam: Elsevier; 2015, Pp. 361–371. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63258-6.00021-4>
18. Sfakianos M.K., Wilson L., Sakalian M. et al. Conserved residues in the putative catalytic triad of human bile acid Coenzyme A: amino acid N-acyltransferase. *J. Biol. Chem.* 2002;**277**(49):47270–47275. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207463200>
19. Whittaker R.G., Manthey M.K., Le Brocq D.S. et al. A microtiter plate assay for the characterization of serine proteases by their esterase activity. *Anal. Biochem.* 1994;**220**(2):238–243. <https://doi.org/10.1006/abio.1994.1333>
20. Choi W., Li C., Chen Y. et al. Structural dynamics of human fatty acid synthase in the condensing cycle. *Nature*. 2025;**641**(8062):529–536. <https://doi.org/10.1038/s41586-025-08782-w>
21. Lockridge O., Xue W., Gaydess A. et al. Pseudo-esterase activity of human albumin: Slow turnover on tyrosine 411 and stable acetylation of 82 residues including 59 lysines. *J. Biol. Chem.* 2008;**283**(33):22582–22590. <https://doi.org/10.1074/jbc.M802555200>
22. Belinskaya D.A., Voronina P.A., Shmurak V.I. et al. Serum Albumin in Health and Disease: Esterase, Antioxidant, Transporting and Signaling Properties. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;**22**(19):10318. <https://doi.org/10.3390/ijms221910318>

23. Belinskaya D.A., Jenkins R.O., Goncharov N.V. Albumin Is an Integrative Protein of Blood Plasma and Beyond. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;**25**(23):12627. <https://doi.org/10.3390/ijms252312627>
24. Ollis D.L., Cheah E., Cygler M. et al. The alpha/beta hydrolase fold. *Protein Eng.* 1992;**5**(3):197–211. <https://doi.org/10.1093/protein/5.3.197>
25. Carr P.D., Ollis D.L. Alpha/beta hydrolase fold: an update. *Protein Pept. Lett.* 2009;**16**(10):1137–1148. <https://doi.org/10.2174/092986609789071298>
26. Pezzementi L., Chatonnet A. Evolution of cholinesterases in the animal kingdom. *Chem. Biol. Interact.* 2010;**187**(1–3):27–33. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.03.043>
27. Lockridge O., Quinn D.M., Radić Z. Esterases. In: *Comprehensive Toxicol.* Elsevier; 2018:277–307. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.01970-x>
28. Akoh C.C., Lee G.C., Liaw Y.C. et al. GDSL family of serine esterases/lipases. *Prog. Lipid Res.* 2004;**43**(6):534–552. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2004.09.002>
29. Denessiouk K., Denesyuk A.I., Permyakov S.E. et al. The active site of the SGNH hydrolase-like fold proteins: nucleophile-oxyanion (Nuc-Oxy) and acid-base zones. *Curr. Res. Struct. Biol.* 2023;**7**:100123. <https://doi.org/10.1016/j.crstbi.2023.100123>
30. Anantharaman V., Aravind L. Novel eukaryotic enzymes modifying cell-surface biopolymers. *Biol. Direct.* 2010;**5**:1. <https://doi.org/10.1186/1745-6150-5-1>
31. Harel M., Aharoni A., Gaidukov L. et al. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2004;**11**(5):412–419. <https://doi.org/10.1038/nsmb767>
32. Blaha-Nelson D., Krüger D.M., Szeler K. et al. Active Site Hydrophobicity and the Convergent Evolution of Paraoxonase Activity in Structurally Divergent Enzymes: The Case of Serum Paraoxonase 1. *J. Am. Chem. Soc.* 2017;**139**(3):1155–1167. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b10801>
33. Grunkemeyer T.J., Mata D.G., Doddapaneni K. et al. Insights into the Mechanism of Paraoxonase-1: Comparing the Reactivity of the Six-Bladed β -Propeller Hydrolases. *Biochemistry.* 2024;**63**(24):3287–3299. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b01115>
34. Pääkkönen J., Hakulinen N., Andberg M. et al. Three-dimensional structure of xylonolactonase from *Caulobacter crescentus*: A mononuclear iron enzyme of the 6-bladed β -propeller hydrolase family. *Protein Sci.* 2022;**31**(2):371–383. <https://doi.org/10.1002/pro.4229>
35. Hsiao Y.S., Parker D., Ratner A.J. et al. Crystal structures of respiratory pathogen neuraminidases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009;**380**(3):467–471. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.01.108>
36. McAuley J.L., Gilbertson B.P., Trifkovic S. et al. Influenza virus neuraminidase structure and functions. *Front. Microbiol.* 2019;**10**:39. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00039>
37. Buchini S., Gallat F.X., Greig I.R. et al. Tuning mechanism-based inactivators of neuraminidases: mechanistic and structural insights. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2014;**53**(13):3382–3386. <https://doi.org/10.1002/anie.201309675>

38. Maurice P., Baud S., Bocharova O.V. et al. New Insights into Molecular Organization of Human Neuraminidase-1: Transmembrane Topology and Dimerization Ability. *Sci. Rep.* 2016;**6**:38363. <https://doi.org/10.1038/srep38363>
39. Kannan K.K., Notstrand B., Fridborg K. et al. Crystal structure of human erythrocyte carbonic anhydrase B. Three-dimensional structure at a nominal 2.2-Å resolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1975;**72**(1):51–55. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.1.51>
40. Liljas A., Laurberg M. A wheel invented three times. The molecular structures of the three carbonic anhydrases. *EMBO Rep.* 2000;**1**(1):16–17. <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kvd016>
41. Di Fiore A., D'Ambrosio K., Ayoub J. et al. α -Carbonic anhydrases. In: *Supuran C.T., Nocentini A., eds. Carbonic Anhydrases.* Amsterdam: Academic Press; 2019:19–54. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816476-1.00002-2>
42. Getman D.K., Eubanks J.H., Camp S. et al. The human gene encoding acetylcholinesterase is located on the long arm of chromosome 7. *Am. J. Hum. Genet.* 1992;**51**(1):170–177.
43. Rachinsky T.L., Camp S., Li Y. et al. Molecular cloning of mouse acetylcholinesterase: tissue distribution of alternatively spliced mRNA species. *Neuron.* 1990;**5**(3):317–327. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(90\)90168-f](https://doi.org/10.1016/0896-6273(90)90168-f)
44. Roberts W.L., Santikarn S., Reinhold V.N. et al. Structural characterization of the glycoinositol phospholipid membrane anchor of human erythrocyte acetylcholinesterase by fast atom bombardment mass spectrometry. *J. Biol. Chem.* 1988;**263**(35):18776–18784.
45. Zimmermann M. Neuronal AChE splice variants and their non-hydrolytic functions: redefining a target of AChE inhibitors? *Br. J. Pharmacol.* 2013;**170**(5):953–967. <https://doi.org/10.1111/bph.12359>
46. Campanari M.L., Navarrete F., Ginsberg S.D. et al. Increased Expression of Read-through Acetylcholinesterase Variants in the Brains of Alzheimer's Disease Patients. *J. Alzheimers Dis.* 2016;**53**(3):831–841. <https://doi.org/10.3233/JAD-160220>
47. Kim S.H., Kandiah N., Hsu J.L. et al. Beyond symptomatic effects: potential of donepezil as a neuroprotective agent and disease modifier in Alzheimer's disease. *Br. J. Pharmacol.* 2017;**174**(23):4224–4232. <https://doi.org/10.1111/bph.14030>
48. Carletti E., Colletier J.P., Dupeux F. et al. Structural evidence that human acetylcholinesterase is inhibited by tabun ages through O-dealkylation. *J. Med. Chem.* 2010;**53**(10):4002–4008. <https://doi.org/10.1021/jm901853b>
49. Harel M., Schalk I., Ehret-Sabatier L. et al. Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993;**90**(19):9031–9035. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.19.9031>
50. Gerlits O., Blakeley M.P., Keen D.A. et al. Room temperature crystallography of human acetylcholinesterase bound to a substrate analogue 4K-TMA: towards a neutron structure. *Curr. Res. Struct. Biol.* 2021;**3**:206–215. <https://doi.org/10.1016/j.crstbi.2021.08.003>
51. Jo S., Kim T., Iyer V.G. et al. CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM. *J. Comput. Chem.* 2008;**29**(11):1859–1865. <https://doi.org/10.1002/jcc.20945>

52. Gerlits O., Fajer M., Cheng X. et al. Structural and Dynamic Effects of Paraoxon Binding to Human Acetylcholinesterase by X-ray Crystallography and Inelastic Neutron Scattering. *Structure*. 2022;**30**(11):1538–1549.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2022.09.006>
53. Bourne Y., Radic Z., Sulzenbacher G. et al. Substrate and Product Trafficking Through the Active Center Gorge of Acetylcholinesterase Analyzed by Crystallography and Equilibrium Binding. *J. Biol. Chem.* 2006;**281**(39):29256–29267. <https://doi.org/10.1074/jbc.M603018200>
54. Johnson G., Moore S.W. The Peripheral Anionic Site of Acetylcholinesterase: Structure, Functions and Potential Role in Rational Drug Design. *Curr. Pharm. Des.* 2006;**12**(2):217–225. <https://doi.org/10.2174/138161206775193127>
55. Radić Z. Connectivity between Surface and Interior in Catalytic Subunits of Acetylcholinesterases Inferred from Their X-ray Structures. *J. Neurochem.* 2024;**168**(4):386–396. <https://doi.org/10.1111/jnc.15802>
56. Chatonnet A., Brazzolotto X., Hotelier T. et al. An evolutionary perspective on the first disulfide bond in members of the cholinesterase-carboxylesterase (COesterase) family: possible outcomes for cholinesterase expression in prokaryotes. *Chem. Biol. Interact.* 2019;**308**:179–184. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.05.016>
57. Dvir H., Silman I., Harel M. et al. Acetylcholinesterase: from 3D structure to function. *Chem. Biol. Interact.* 2010;**187**(1–3):10–22. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.01.042>
58. Pezzementi L., Chatonnet A. Evolution of cholinesterases in the animal kingdom. *Chem. Biol. Interact.* 2010;**187**(1–3):27–33. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.03.043>
59. Pham V.D., To T.A., Gagné-Thivierge C. et al. Structural insights into the putative bacterial acetylcholinesterase ChoE and its substrate inhibition mechanism. *J. Biol. Chem.* 2020;**295**(26):8708–8724. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.011809>
60. Goncharov N.V., Belinskaya D.A., Avdonin P.V. et al. Organofosfat-indutsirovannaya patologiya: mekhanizmy razvitiya, printsipy terapii i osobennosti eksperimental'nykh issledovaniy [Organophosphate-Induced Pathology: Mechanisms of Development, Principles of Therapy and Features of Experimental Studies]. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova = Russian Journal of Physiology*. 2023;**109**(10):1349–1397. (In Russ.) <https://doi.org/10.31857/S0869813923100059>
61. Lovins A.R., Miller K.A., Buck A.K. et al. 4-Amidophenol quinone methide precursors: effective and broad-scope nonoxime reactivators of organophosphorus-inhibited cholinesterases and resurrectors of organophosphorus-aged acetylcholinesterase. *ACS Chem. Neurosci.* 2024;**15**(9):1813–1827. <https://doi.org/10.1021/acchemneuro.4c00011>
62. Bennett J.P., Meek E.C., Chambers J.E. Reactivation by novel pyridinium oximes of rat serum and skeletal muscle acetylcholinesterase inhibited by organophosphates. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2024;**38**(7):e23750. <https://doi.org/10.1002/jbt.23750>
63. Mesulam M. The cholinergic lesion of Alzheimer's disease: pivotal factor or side-show? *Learn. Mem.* 2004;**11**(1):43–49. <https://doi.org/10.1101/lm.69204>
64. Bondžić A.M., Lazarević-Pašti T.D., Leskovic A.R. et al. A new acetylcholinesterase allosteric site responsible for binding voluminous negatively charged molecules – the role in the mechanism of AChE inhibition. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2020;**151**:105376. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105376>

65. Das A., Sinha K., Chakrabarty S. Elucidating the molecular mechanism of noncompetitive inhibition of acetylcholinesterase by an antidiabetic drug chlorpropamide: identification of new allosteric sites. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2024;**26**(46):28894–28903. <https://doi.org/10.1039/d4cp02921f>
66. Chelusnova Y.V., Voronina P.A., Belinskaia D.A. et al. Benzimidazole-carboxamides as Potential Therapeutics for Alzheimer’s Disease: Primary Analysis *In Silico* and *In Vitro*. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2023;**175**(3):345–352. <https://doi.org/10.1007/s10517-023-05865-4>
67. Belinskaia D.A., Voronina P.A., Krivorotov D.V. et al. Anticholinesterase and Serotonergic Evaluation of Benzimidazole-Carboxamides as Potential Multifunctional Agents for the Treatment of Alzheimer’s Disease. *Pharmaceutics*. 2023;**15**(8):2159. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15082159>
68. Gupta S., Belle V.S., Kumbarakeri Rajashekhar R. et al. Correlation of red blood cell acetylcholinesterase enzyme activity with various RBC indices. *Ind. J. Clin. Biochem.* 2018;**33**(4):445–449. <https://doi.org/10.1007/s12291-017-0691-0>
69. Teixeira P., Duro N., Napoleão P. et al. Acetylcholinesterase conformational states influence nitric oxide mobilization in the erythrocyte. *J. Membr. Biol.* 2015;**248**(2):349–354. <https://doi.org/10.1007/s00232-015-9763-8>
70. Saldanha C., Silva Herdade A. Erythrocyte Acetylcholinesterase is a Signaling Receptor. *Novel Approach Drug Des. Dev.* 2018;**3**(4):77–80. <https://doi.org/10.19080/NAPDD.2018.03.555617>
71. Assis C.R.D., Linhares A.G., Cabrera M.P. et al. Erythrocyte acetylcholinesterase as biomarker of pesticide exposure: new and forgotten insights. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2018;**25**(19):18364–18376. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2303-9>
72. Nanhah V.J.K., Ntepe L.J.M., Tchuente B.R.T. et al. Neurological and organ health risks associated with pesticide mixture exposure in banana farm workers in Moungo Division, Cameroon. *Sci. Rep.* 2025;**15**(1):21041. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-04295-8>
73. Patel A.B. Simple and rapid colorimetric method for determination of erythrocyte and plasma cholinesterase activities and comparison with the standard Ellman’s method. *Publ. Health Toxicol.* 2023;**3**(3):1–10. <https://doi.org/10.18332/pht/172229>
74. Xie Y., Hou Y., Hu M. et al. Dual monitoring of blood acetylcholinesterase content and catalytic activity utilizing fluorometry-integrated surface plasmon resonance. *Biosensors (Basel)*. 2025;**15**(2):118. <https://doi.org/10.3390/bios15020118>
75. Bartels C.F., Zelinski T., Lockridge O. Mutation at codon 322 in the human acetylcholinesterase (ACHE) gene accounts for YT blood group polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 1993;**52**(5):928–936.
76. Masson P., Froment M.T., Sorenson R.C. et al. Mutation His322Asn in human acetylcholinesterase does not alter electrophoretic and catalytic properties of the erythrocyte enzyme. *Blood*. 1994;**83**(10):3003–3005.
77. Ehrlich G., Ginzberg D., Loewenstein Y. et al. Population diversity and distinct haplotype frequencies associated with ACHE and BCHE genes of Israeli Jews from trans-Caucasian Georgia and from Europe. *Genomics*. 1994;**22**(2):288–295. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1386>

78. Shinohara K., Tanaka K.R. Hereditary deficiency of erythrocyte acetylcholinesterase. *Am. J. Hematol.* 1979;**7**(4):313–321. <https://doi.org/10.1002/ajh.2830070403>
79. Brimijoin S., Hammond P. Butyrylcholinesterase in human brain and acetylcholinesterase in human plasma: trace enzymes measured by two-site immunoassay. *J. Neurochem.* 1988;**51**(4):1227–1231. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1988.tb03091.x>
80. García-Ayllón M.S., Riba-Llena I., Serra-Basante C. et al. Altered levels of acetylcholinesterase in Alzheimer plasma. *PLoS One.* 2010;**5**(1):e8701. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008701>
81. Li B., Sedlacek M., Manoharan I. et al. Butyrylcholinesterase, paraoxonase, and albumin esterase, but not carboxylesterase, are present in human plasma. *Biochem. Pharmacol.* 2005;**70**(11):1673–1684. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.09.002>
82. Allderdice P.W., Gardner H.A., Galutira D. et al. The cloned butyrylcholinesterase (BChE) gene maps to a single chromosome site, 3q26. *Genomics.* 1991;**11**(2):452–454. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(91\)90154-7](https://doi.org/10.1016/0888-7543(91)90154-7)
83. Schopfer L.M., Delacour H., Masson P. et al. The C5 variant of the butyrylcholinesterase tetramer includes a noncovalently bound 60 kDa lamellipodin fragment. *Molecules.* 2017;**22**(7):1083. <https://doi.org/10.3390/molecules22071083>
84. Leung M.R., van Bezouwen L.S., Schopfer L.M. et al. Cryo-EM structure of the native butyrylcholinesterase tetramer reveals a dimer of dimers stabilized by a superhelical assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2018;**115**(52):13270–13275. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817009115>
85. Malik A.A., Ojha S.C., Schaduangrat N. et al. ABCpred: a webserver for the discovery of acetyl- and butyryl-cholinesterase inhibitors. *Mol. Divers.* 2022;**26**(1):467–487. <https://doi.org/10.1007/s11030-021-10292-6>
86. Saxena A., Redman A.M., Jiang X. et al. Differences in active site gorge dimensions of cholinesterases revealed by binding of inhibitors to human butyrylcholinesterase. *Biochemistry.* 1997;**36**(48):14642–14651. <https://doi.org/10.1021/bi971425+>
87. Nicolet Y., Lockridge O., Masson P. et al. Crystal structure of human butyrylcholinesterase and of its complexes with substrate and products. *J. Biol. Chem.* 2003;**278**(42):41141–41147. <https://doi.org/10.1074/jbc.M210241200>
88. Khanna R., Morton C.L., Danks M.K. et al. Proficient metabolism of irinotecan by a human intestinal carboxylesterase. *Cancer Res.* 2000;**60**(17):4725–4728.
89. Masson P., Shaihutdinova Z., Lockridge O. Drug and pro-drug substrates and pseudo-substrates of human butyrylcholinesterase. *Biochem. Pharmacol.* 2023;**218**:115910. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115910>
90. Masson P., Lockridge O. Butyrylcholinesterase for protection from organophosphorus poisons: catalytic complexities and hysteretic behavior. *Arch. Biochem. Biophys.* 2010;**494**(2):107–120. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2009.12.005>
91. Roomfield C.A., Maxwell D.M., Solana R.P. et al. Protection by butyrylcholinesterase against organophosphorus poisoning in nonhuman primates. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1991;**259**(2):633–638.
92. Doctor V.P., Saxena A. Bioscavengers for the protection of humans against organophosphate toxicity. *Chem. Biol. Interact.* 2005;**157–158**:167–171. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.10.024>

93. Palikov V.A., Terekhov S.S., Palikova Y.A. et al. Mouse Model for Assessing the Subchronic Toxicity of Organophosphate Pesticides. *Acta Nat.* 2018;**10**(4):125–128.
94. Schopfer L.M., Lockridge O., Brimijoin S. Pure human butyrylcholinesterase hydrolyzes octanoyl ghrelin to desacyl ghrelin. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2015;**224**:61–68. <https://doi.org/10.1016/j.ygcn.2015.05.017>
95. Xing S., Li Q., Xiong B. et al. Structure and therapeutic uses of butyrylcholinesterase: application in detoxification, Alzheimer’s disease, and fat metabolism. *Med. Res. Rev.* 2021;**41**(2):858–901. <https://doi.org/10.1002/med.21745>
96. Dorling J.L., Clayton D.J., Jones J. et al. A randomized crossover trial assessing the effects of acute exercise on appetite, circulating ghrelin concentrations, and butyrylcholinesterase activity in normal weight males with variants of the obesity-linked FTO rs9939609 polymorphism. *Am. J. Clin. Nutr.* 2019;**110**(5):1055–1066. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz188>
97. Karra E., O’Daly O.G., Choudhury A.I. et al. A link between FTO, ghrelin, and impaired brain food-cue responsivity. *J. Clin. Invest.* 2013;**123**(8):3539–3551. <https://doi.org/10.1172/JCI44403>
98. Brimijoin S., Chen V.P., Pang Y.P. et al. Physiological roles for butyrylcholinesterase: A BChE-ghrelin axis. *Chem. Biol. Interact.* 2016;**259**(B):271–275. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.02.013>
99. Gok M., Cicek C., Bodur E. Butyrylcholinesterase in lipid metabolism: A new outlook. *J. Neurochem.* 2024;**168**(4):381–385. <https://doi.org/10.1111/jnc.15833>
100. Chen Y., Black D.S., Reilly P.J. Carboxylic ester hydrolases: classification and database derived from their primary, secondary, and tertiary structures. *Protein Sci.* 2016;**25**(11):1942–1953. <https://doi.org/10.1002/pro.3016>
101. Nguyen P.T.V., Huynh H.A., Truong D.V. et al. Exploring aurone derivatives as potential human pancreatic lipase inhibitors through molecular docking and molecular dynamics simulations. *Molecules.* 2020;**25**(20):4657. <https://doi.org/10.3390/molecules25204657>
102. Yadav N., Paul A.T. Pancreatic lipase and its related proteins: where are we now? *Drug Discov. Today.* 2024;**29**(1):103855. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103855>
103. Radić Z. Connectivity between surface and interior in catalytic subunits of acetylcholinesterases inferred from their X-ray structures. *J. Neurochem.* 2024;**168**(4):386–396. <https://doi.org/10.1111/jnc.15802>
104. Akimov M.G., Kudryavtsev D.S., Kryukova E.V. et al. Arachidonoylcholine and other unsaturated long-chain acylcholines are endogenous modulators of the acetylcholine signaling system. *Biomolecules.* 2020;**10**(2):283. <https://doi.org/10.3390/biom10020283>
105. Yang Z.P., Dettbarn W.D. Prevention of tolerance to the organophosphorus anticholinesterase paraoxon with carboxylesterase inhibitors. *Biochem. Pharmacol.* 1998;**55**(9):1419–1426. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(97\)00650-3](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(97)00650-3)
106. Duysen E.G., Li B., Xie W. et al. Evidence for nonacetylcholinesterase targets of organophosphorus nerve agent: supersensitivity of acetylcholinesterase knockout mouse to VX lethality. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2001;**299**(2):528–535.

107. Manoharan I., Boopathy R., Darvesh S. et al. A medical health report on individuals with silent butyrylcholinesterase in the Vysya community of India. *Clin. Chim. Acta.* 2007;**378**(1–2):128–135. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.11.005>
108. Liu Y., Li J., Zhu H.J. Regulation of carboxylesterases and its impact on pharmacokinetics and pharmacodynamics: an up-to-date review. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2024;**20**(5):377–397. <https://doi.org/10.1080/17425255.2024.2348491>
109. Nagaoka M., Sakai Y., Nakajima M. et al. Role of carboxylesterase and arylacetamide deacetylase in drug metabolism, physiology, and pathology. *Biochem. Pharmacol.* 2024;**223**:116128. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116128>
110. Orcholski M.E., Khurshudyan A., Shamshou E.A. et al. Reduced carboxylesterase 1 is associated with endothelial injury in methamphetamine-induced pulmonary arterial hypertension. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2017;**313**(2):L252–L266. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00453.2016>
111. Imai T., Ohura K. The role of intestinal carboxylesterase in the oral absorption of prodrugs. *Curr. Drug Metab.* 2010;**11**(9):793–805. <https://doi.org/10.2174/138920010794328904>
112. Sanghani S.P., Sanghani P.C., Schiel M.A. et al. Human carboxylesterases: an update on CES1, CES2 and CES3. *Protein Pept. Lett.* 2009;**16**(10):1207–1214. <https://doi.org/10.2174/092986609789071324>
113. Holmes R.S., Cox L.A., VandeBerg J.L. Mammalian carboxylesterase 3: comparative genomics and proteomics. *Genetica.* 2010;**138**(7):695–708. <https://doi.org/10.1007/s10709-010-9438-z>
114. Imai T. Human carboxylesterase isozymes: catalytic properties and rational drug design. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2006;**21**(3):173–185. <https://doi.org/10.2133/dmpk.21.173>
115. Wang D., Zou L., Jin Q. et al. Human carboxylesterases: a comprehensive review. *Acta Pharm. Sin. B.* 2018;**8**(5):699–712. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2018.05.005>
116. Ribone S.R., Estrin D.A., Quevedo M.A. Exploring human carboxylesterases 1 and 2 selectivity of two families of substrates at an atomistic level. *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteom.* 2025;**1873**(4):141069. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2025.141069>
117. Zhang J., Burnell J.C., Dumauval N. et al. Binding and hydrolysis of meperidine by human liver carboxylesterase hCE-1. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999;**290**(1):314–318. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(94\)90461-8](https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90461-8)
118. Tabata T., Katoh M., Tokudome S. et al. Identification of the cytosolic carboxylesterase catalyzing the 5'-deoxy-5-fluorocytidine formation from capecitabine in human liver. *Drug Metab. Dispos.* 2004;**32**(10):1103–1110. <https://doi.org/10.1124/dmd.104.000554>
119. Mutch E., Nave R., McCracken N. et al. The role of esterases in the metabolism of ciclesonide to desisobutyl-ciclesonide in human tissue. *Biochem. Pharmacol.* 2007;**73**(10):1657–1664. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.01.031>
120. Matsumoto N., Kubota Y., Ishida H. et al. Variants of carboxylesterase 1 have no impact on capecitabine pharmacokinetics and toxicity in capecitabine plus oxaliplatin treated-colorectal cancer patients. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2020;**85**(6):1119–1128. <https://doi.org/10.1007/s00280-020-04087-z>

121. Brzezinski M.R., Abraham T.L., Stone C.L. et al. Purification and characterization of a human liver cocaine carboxylesterase that catalyzes the production of benzoylecgonine and the formation of cocaethylene from alcohol and cocaine. *Biochem. Pharmacol.* 1994;**48**(9):1747–1755. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(94\)90461-8](https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90461-8)
122. Shi J., Xiao J., Wang X. et al. Plasma Carboxylesterase 1 Predicts Methylphenidate Exposure: A Proof-of-Concept Study Using Plasma Protein Biomarker for Hepatic Drug Metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2022;**111**(4):878–885. <https://doi.org/10.1002/cpt.2486>
123. Zhu H.J., Markowitz J.S. Activation of the antiviral prodrug oseltamivir is impaired by two newly identified carboxylesterase 1 variants. *Drug Metab. Dispos.* 2009;**37**(2):264–267. <https://doi.org/10.1124/dmd.108.024943>
124. Shi D., Yang J., Yang D. et al. Anti-influenza prodrug oseltamivir is activated by carboxylesterase human carboxylesterase 1, and the activation is inhibited by anti-platelet agent clopidogrel. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006;**319**(3):1477–1484. <https://doi.org/10.1124/jpet.106.111807>
125. Zhu H.J., Appel D.I., Johnson J.A. et al. Role of carboxylesterase 1 and impact of natural genetic variants on the hydrolysis of trandolapril. *Biochem. Pharmacol.* 2009;**77**(7):1266–1272. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.12.017>
126. Liu J., He Y., Lwin C. et al. Neuropathy target esterase activity defines phenotypes among PNPLA6 disorders. *Brain.* 2024;**147**(6):2085–2097. <https://doi.org/10.1093/brain/awae055>
127. Humerickhouse R., Lohrbach K., Li L. et al. Characterization of CPT-11 hydrolysis by human liver carboxylesterase isoforms hCE-1 and hCE-2. *Cancer Res.* 2000;**60**(5):1189–1192.
128. Kailass K., Casalena D., Jenane L. et al. Tight-Binding Small-Molecule Carboxylesterase 2 Inhibitors Reduce Intracellular Irinotecan Activation. *J. Med. Chem.* 2024;**67**(3):2019–2030. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c01850>
129. Ross M.K., Borazjani A., Edwards C.C. et al. Hydrolytic metabolism of pyrethroids by human and other mammalian carboxylesterases. *Biochem. Pharmacol.* 2006;**71**(5):657–669. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.11.020>
130. Lei W., Wang D.D., Dou T.Y. et al. Assessment of the inhibitory effects of pyrethroids against human carboxylesterases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2017;**321**:48–56. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.02.018>
131. Mukherjee S., Choi M., Yun J.W. Novel regulatory roles of carboxylesterase 3 in lipid metabolism and browning in 3T3-L1 white adipocytes. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2019;**44**(10):1089–1098. <https://doi.org/10.1139/apnm-2018-0814>
132. Maxwell D.M., Brecht K., Saxena A. et al. Comparison of Cholinesterases and Carboxylesterase as Bioscavengers for Organophosphorus Compounds. In: *Doctor B.P., Taylor P., Quinn D.M. et al., eds. Structure and Function of Cholinesterases and Related Proteins.* Boston: Springer; 1998:109–116. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1540-5_109
133. Satoh T., Hosokawa M. Structure, function and regulation of carboxylesterases. *Chem. Biol. Interact.* 2006;**162**(3):195–211. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.07.0014>

134. Maxwell D.M., Brecht K.M. Carboxylesterase: specificity and spontaneous reactivation of an endogenous scavenger for organophosphorus compounds. *J. Appl. Toxicol.* 2001;**21** Suppl 1:S103–S107. <https://doi.org/10.1002/jat.833>
135. Jokanović M. Metabolism of Warfare Nerve Agents. In: Gupta R.C., ed. *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents*. Academic Press; 2009:799–810. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374484-8.00052-3>
136. Maxwell D.M., Lenz D.E., Groff W.A. et al. The effects of blood flow and detoxification on in vivo cholinesterase inhibition by soman in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1987;**88**(1):66–76. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(87\)90270-5](https://doi.org/10.1016/0041-008X(87)90270-5)
137. Maxwell D.M., Brecht K.M., O'Neill B.L. The effect of carboxylesterase inhibition on interspecies differences in soman toxicity. *Toxicol. Lett.* 1987;**39**(1):35–42. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(87\)90254-2](https://doi.org/10.1016/0378-4274(87)90254-2)
138. Block W., Arndt R. Chromatographic study on the specificity of bis-p-nitrophenylphosphate in vivo. Identification of labelled proteins of rat liver after intravenous injection of bis-p-nitro[¹⁴C]phenylphosphate as carboxylesterases and amidases. *Biochim. Biophys. Acta.* 1978;**524**(1):85–93. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(78\)90106-7](https://doi.org/10.1016/0005-2744(78)90106-7)
139. Wadkins R.M., Hyatt J.L., Wei X. et al. Identification and characterization of novel benzil (diphenylethane-1,2-dione) analogues as inhibitors of mammalian carboxylesterases. *J. Med. Chem.* 2005;**48**(8):2906–2915. <https://doi.org/10.1021/jm049011j>
140. Lewoń-Mrozek D., Kurzynoga J., Jędrzejewski P. et al. Molecular Structure of Paraoxonase-1 and Its Modifications in Relation to Enzyme Activity and Biological Functions—A Comprehensive Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;**25**(23):13129. <https://doi.org/10.3390/ijms252313129>
141. Draganov D.I., Teiber J.F., Speelman A. et al. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J. Lipid Res.* 2005;**46**(6):1239–1247. <https://doi.org/10.1194/jlr.M400511-JLR200>
142. Gan K.N., Smolen A., Eckerson H.W. et al. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab. Dispos.* 1991;**19**(1):100–106.
143. Jakubowski H. Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylolation. *J. Biol. Chem.* 2000;**275**(6):3957–3962. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.6.3957>
144. Jakubowski H., Ambrosius W.T., Pratt J.H. Genetic determinants of homocysteine thiolactonase activity in humans: implications for atherosclerosis. *FEBS Lett.* 2001;**491**(1–2):35–39. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(01\)02143-3](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(01)02143-3)
145. Jakubowski H., Witucki Ł. Homocysteine metabolites, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2025;**26**(2):746. <https://doi.org/10.3390/ijms26020746>
146. Jakubowski H. The molecular bases of anti-oxidative and anti-inflammatory properties of paraoxonase 1. *Antioxidants (Basel)*. 2024;**13**(11):1292. <https://doi.org/10.3390/antiox13111292>
147. Billecke S., Draganov D., Counsell R. et al. Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab. Dispos.* 2000;**28**(11):1335–1342.

148. Teiber J.F., Xiao J., Kramer G.L. et al. Identification of biologically active δ -lactone eicosanoids as paraoxonase substrates. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018;**505**(1):87–92. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.09.083>
149. Harel M., Brumshtein B., Meged R. et al. 3-D structure of serum paraoxonase 1 sheds light on its activity, stability, solubility and crystallizability. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 2007;**58**(3):347–353. <https://doi.org/10.2478/v10004-007-0028-0>
150. Lin B.B., Su H., Ma G.C. et al. Theoretical study of the hydrolysis mechanism of dihydrocoumarin catalyzed by serum paraoxonase 1 (PON1): different roles of Glu53 and His115 for catalysis. *RSC Adv.* 2016;**6**:60376–60384.
151. Mackness M., Mackness B. Human paraoxonase-1 (PON1): gene structure and expression, promiscuous activities and multiple physiological roles. *Gene.* 2015;**567**(1):12–21. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.04.088>
152. Şahin B., Çenesiz S. The effect of mercury, copper, and zinc on paraoxonase (PON) enzyme activity in bonito (*Sarda sarda*) fish. *Ege J. Fish Aquat. Sci.* 2021;**38**(4):479–486. <https://doi.org/10.12714/egejfas.38.4.09>
153. Smerkolj J., Bahun M., Poklar Ulrih N. et al. Slow binding modulation of paraoxonase 1 activity with terbium ions. *Chem. Biol. Interact.* 2025;**420**:111708. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2025.111708>
154. Shunmoogam N., Naidoo P., Chilton R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance. *Vasc. Health Risk Manag.* 2018;**14**:137–143. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S165173>
155. Brophy V.H., Jampsa R.L., Clendenning J.B. et al. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (PON1) expression. *Am. J. Hum. Genet.* 2001;**68**(6):1428–1436. <https://doi.org/10.1086/320600>
156. Sudhan M., Janakiraman V., Ahmad S.F. et al. Structural characteristics of PON1 with Leu55Met and Gln192Arg variants influencing oxidative-stress-related diseases: an integrated molecular modeling and dynamics study. *Medicina (Kaunas).* 2023;**59**(12):2060. <https://doi.org/10.3390/medicina59122060>
157. Davies H.G., Richter R.J., Keifer M. et al. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nat. Genet.* 1996;**14**(3):334–336. <https://doi.org/10.1038/ng1196-334>
158. Filippova Yu.E., Malishevskaya T.N., Petrov S.A. et al. Fermentativnaya aktivnost' paraoksonazy v zavisimosti ot polimorfizma Q192R gena PON1 u patsiyentov s pervichnoy otkrytougol'noy glaukomoy [Enzymatic activity of paraoxonase depending on polymorphism Q192R of the PON1 gene in patients with primary open-angle glaucoma]. *Vestnik oftal'mologii = Russian Annals of Ophthalmology.* 2022;**138**(2):58–64. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma202213802158>
159. Li W.F., Costa L.G., Richter R.J. et al. Catalytic efficiency determines the in-vivo efficacy of PON1 for detoxifying organophosphorus compounds. *Pharmacogenetics.* 2000;**10**(9):767–779. <https://doi.org/10.1097/00008571-200012000-00002>
160. Mackness B., Davies G.K., Turkie W. et al. Paraoxonase and susceptibility to organophosphorus poisoning in farmers dipping sheep. *Pharmacogenetics.* 2003;**13**(2):81–88. <https://doi.org/10.1097/00008571-200302000-00004>

161. Mackness B., Davies G.K., Turkie W. et al. Paraoxonase and susceptibility to organophosphorus poisoning in farmers dipping sheep. *Pharmacogenetics*. 2003;**13**(2):81–88. <https://doi.org/10.1097/00008571-200302000-00004>
162. Gur M., Aslan M., Yildiz A. et al. Paraoxonase and arylesterase activities in coronary artery disease. *Eur. J. Clin. Invest.* 2006;**36**(11):779–787. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2006.01727.x>
163. Sentí M., Tomás M., Marrugat J. et al. Paraoxonase1-192 polymorphism modulates the nonfatal myocardial infarction risk associated with decreased HDLs. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001;**21**(3):415–420. <https://doi.org/10.1161/01.atv.21.3.415>
164. Ashiq S., Ashiq K. The Role of Paraoxonase 1 (PON1) Gene Polymorphisms in Coronary Artery Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biochem. Genet.* 2021;**59**(4):919–939. <https://doi.org/10.1007/s10528-021-10043-0>
165. Elias M., Tawfik D.S. Divergence and convergence in enzyme evolution: parallel evolution of paraoxonases from quorum-quenching lactonases. *J. Biol. Chem.* 2012;**287**(1):11–20. <https://doi.org/10.1074/jbc.R111.257329>
166. Gorelik A., Illes K., Mazhab-Jafari M.T. et al. Structure of the immunoregulatory sialidase NEU1. *Sci. Adv.* 2023;**9**(20):eadf8169. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adf8169>
167. Wu D., Li Y., Song G. et al. Crystal structure of human esterase D: a potential genetic marker of retinoblastoma. *FASEB J.* 2009;**23**(5):1441–1446. <https://doi.org/10.1096/fj.08-125286>
168. Tsuchida S., Fukui E., Ikemoto S. Molecular analysis of esterase D polymorphism. *Hum. Genet.* 1994;**93**(3):255–258. <https://doi.org/10.1007/BF00212018>
169. Hopkinson D.A., Mestriner M.A., Cortner J. et al. Esterase D: a new human polymorphism. *Ann. Hum. Genet.* 1973;**37**(2):119–137. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1973.tb01820.x>
170. Sparkes R.S., Murphree A.L., Lingua R.W. et al. Gene for hereditary retinoblastoma assigned to human chromosome 13 by linkage to esterase D. *Science*. 1983;**219**(4587):971–973. <https://doi.org/10.1126/science.6823558>
171. Okunuki Y., Usui Y., Kezuka T. et al. Proteomic surveillance of retinal autoantigens in endogenous uveitis: implication of esterase D and brain-type creatine kinase as novel autoantigens. *Mol. Vis.* 2008;**14**:1094–1104.
172. Imai T., Isozaki M., Ohura K. Esterases involved in the rapid bioconversion of esmolol after intravenous injection in humans. *Biol. Pharm. Bull.* 2022;**45**(10):1544–1552. <https://doi.org/10.1248/bpb.b22-00468>
173. Lee W.H., Wheatley W., Benedict W.F. et al. Purification, biochemical characterization, and biological function of human esterase D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1986;**83**(18):6790–6794. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.18.6790>
174. Nandakumar M., Sathyapalan T., Butler A.E. et al. Oxidative stress markers and heat shock proteins in non-obese women with polycystic ovary syndrome are not elevated and show no correlation with vitamin D. *Biomedicines*. 2023;**11**(7):2044. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11072044>
175. Li W., Zhu Z., Cao W. et al. Esterase D enhances type I interferon signal transduction to suppress foot-and-mouth disease virus replication. *Mol. Immunol.* 2016;**75**:112–121. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2016.05.016>

176. Wang S., Han W., Zhao B. et al. Activating esterase D by PFD5 exerts antiviral effect through inhibiting glutathionization of LAMP1 during senecavirus A infection. *Microb. Pathog.* 2025;**198**:107148. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.107148>
177. Potter A.J., Kidd S.P., Edwards J.L. et al. Esterase D is essential for protection of *Neisseria gonorrhoeae* against nitrosative stress and for bacterial growth during interaction with cervical epithelial cells. *J. Infect. Dis.* 2009;**200**(2):273–278. <https://doi.org/10.1086/599987>
178. Smith K.S., Jakubzick C., Whittam T.S. et al. Carbonic anhydrase is an ancient enzyme widespread in prokaryotes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999;**96**(26):15184–15189. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.26.15184>
179. Ozensoy Guler O., Capasso C., Supuran C.T. A magnificent enzyme superfamily: carbonic anhydrases, their purification and characterization. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2016;**31**(5):689–694. <https://doi.org/10.3109/14756366.2015.1059333>
180. Dodgson S.J., Forster R.E. 2nd. Carbonic anhydrase activity of intact erythrocytes from seven mammals. *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exerc. Physiol.* 1983;**55**(4):1292–1298. <https://doi.org/10.1152/jappl.1983.55.4.1292>
181. Chafik A., Essamadi A., Çelik S.Y. et al. Purification and biochemical characterization of a novel carbonic anhydrase II from erythrocytes of camel (*Camelus dromedarius*). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2023;**676**:171–181. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.07.055>
182. Thorslund A., Lindskog S. Studies of the esterase activity and the anion inhibition of bovine zinc and cobalt carbonic anhydrases. *Eur. J. Biochem.* 1967;**3**(1):117–123. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1967.tb19504.x>
183. Gould S.M., Tawfik D.S. Directed evolution of the promiscuous esterase activity of carbonic anhydrase II. *Biochemistry.* 2005;**44**(14):5444–5452. <https://doi.org/10.1021/bi0475471>
184. Maresca A., Temperini C., Pochet L. et al. Deciphering the mechanism of carbonic anhydrase inhibition with coumarins and thiocoumarins. *J. Med. Chem.* 2010;**53**(1):335–344. <https://doi.org/10.1021/jm901287j>
185. Lopez M., Vu H., Wang C.K. et al. Promiscuity of carbonic anhydrase II. Unexpected ester hydrolysis of carbohydrate-based sulfamate inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.* 2011;**133**(45):18452–18462. <https://doi.org/10.1021/ja207855c>
186. Sjöblom B., Polentarutti M., Djinovic-Carugo K. Structural study of X-ray induced activation of carbonic anhydrase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009;**106**(26):10609–10613. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904184106>
187. Piazzetta P., Marino T., Russo N. Mechanistic Explanation of the Weak Carbonic Anhydrase’s Esterase Activity. *Molecules.* 2017;**22**(6):1009. <https://doi.org/10.3390/molecules22061009>
188. Kim J.K., Lim S.W., Jeong H. et al. Fast product release requires active-site water dynamics in carbonic anhydrase. *Nat. Commun.* 2025;**16**(1):4404. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-59645-x>
189. Elleby B., Sjöblom B., Lindskog S. Changing the efficiency and specificity of the esterase activity of human carbonic anhydrase II by site-specific mutagenesis. *Eur. J. Biochem.* 1999;**262**(2):516–521. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00400.x>

190. Höst G., Mårtensson L.G., Jonsson B.H. Redesign of human carbonic anhydrase II for increased esterase activity and specificity towards esters with long acyl chains. *Biochim. Biophys. Acta.* 2006;**1764**(10):1601–1606. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2006.07.010>
191. Esmaeili S., Ashrafi-Kooshk M.R., Adibi H. et al. Captopril/enalapril inhibit promiscuous esterase activity of carbonic anhydrase at micromolar concentrations: An *in vitro* study. *Chem. Biol. Interact.* 2017;**265**:24–35. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.01.014>
192. Karaçelik A.A., Küçük M., Türkuçar S.A. et al. Common Food Additives Inhibit Carbonic Anhydrase Activity. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2025;**39**(9):e70444. <https://doi.org/10.1002/jbt.70444>
193. Gambhir K.K., Ornasir J., Headings V. et al. Decreased Total Carbonic Anhydrase Esterase Activity and Decreased Levels of Carbonic Anhydrase 1 Isoenzyme in Erythrocytes of Type II Diabetic Patients. *Biochem. Genet.* 2007;**45**(5–6):431–439. <https://doi.org/10.1007/s10528-007-9086-x>
194. Quistad G.B., Barlow C., Winrow C.J. et al. Evidence That Mouse Brain Neuropathy Target Esterase Is a Lysophospholipase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003;**100**(13):7983–7987. <https://doi.org/10.1073/pnas.1232473100>
195. van Tienhoven M., Atkins J., Li Y. et al. Human Neuropathy Target Esterase Catalyzes Hydrolysis of Membrane Lipids. *J. Biol. Chem.* 2002;**277**(23):20942–20948. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200330200>
196. Read D.J., Li Y., Chao M.V. et al. Neuropathy Target Esterase Is Required for Adult Vertebrate Axon Maintenance. *J. Neurosci.* 2009;**29**(37):11594–11600. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3007-09.2009>
197. Song F., Xie K. Calcium-Dependent Neutral Cysteine Protease and Organophosphate-Induced Delayed Neuropathy. *Chem. Biol. Interact.* 2012;**200**(2–3):114–118. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2012.10.001>
198. Lotti M., Moretto A. Organophosphate-Induced Delayed Polyneuropathy. *Toxicol. Rev.* 2005;**24**(1):37–49. <https://doi.org/10.2165/00139709-200524010-00003>
199. Peraica M., Capodicasa E., Moretto A. et al. Organophosphate Polyneuropathy in Chicks. *Biochem. Pharmacol.* 1993;**45**(1):131–135. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(93\)90385-a](https://doi.org/10.1016/0006-2952(93)90385-a)
200. Bertoincin D., Russolo A., Caroldi S. et al. Neuropathy Target Esterase in Human Lymphocytes. *Arch. Environ. Health.* 1985;**40**(3):139–144. <https://doi.org/10.1080/00039896.1985.10545905>
201. Maroni M., Bleecker M.L. Neuropathy Target Esterase in Human Lymphocytes and Platelets. *J. Appl. Toxicol.* 1986;**6**(1):1–7. <https://doi.org/10.1002/jat.2550060102>
202. Tsap M.I., Yatsenko A.S., Hegermann J. et al. Unraveling the Link Between Neuropathy Target Esterase NTE/SWS, Lysosomal Storage Diseases, Inflammation, Abnormal Fatty Acid Metabolism, and Leaky Brain Barrier. *eLife.* 2024;**13**:e98020. <https://doi.org/10.7554/eLife.98020>
203. Li Y., Dinsdale D., Glynn P. Protein Domains, Catalytic Activity, and Subcellular Distribution of Neuropathy Target Esterase in Mammalian Cells. *J. Biol. Chem.* 2003;**278**(10):8820–8825. <https://doi.org/10.1074/jbc.M210743200>

204. Chang P., He L., Wang Y. et al. Characterization of the Interaction of Neuropathy Target Esterase with the Endoplasmic Reticulum and Lipid Droplets. *Biomolecules*. 2019;**9**(12):848. <https://doi.org/10.3390/biom9120848>
205. Atkins J., Glynn P. Membrane Association of and Critical Residues in the Catalytic Domain of Human Neuropathy Target Esterase. *J. Biol. Chem.* 2000;**275**(32):24477–24483. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002921200>
206. Wu W., Wang P. Computational Modeling Study of the Binding of Aging and Non-Aging Inhibitors with Neuropathy Target Esterase. *Molecules*. 2023;**28**(23):7747. <https://doi.org/10.3390/molecules28237747>
207. Varadi M., Bertoni D., Magana P. et al. AlphaFold Protein Structure Database in 2024: Providing Structure Coverage for Over 214 Million Protein Sequences. *Nucleic Acids Res.* 2024;**52** D1:D368–D375. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad1011>
208. Synofzik M., Hufnagel R.B., Züchner S. PNPLA6 Disorders. In: *Adam M.P., Feldman J., Mirzaz G.M., eds. GeneReviews® [Internet]*. University of Washington. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK247161> (Accessed: 08.11.2025).
209. Kretzschmar D. PNPLA6/NTE, an Evolutionarily Conserved Phospholipase Linked to a Group of Complex Human Diseases. *Metabolites*. 2022;**12**(4):284. <https://doi.org/10.3390/metabo12040284>
210. Lush M.J., Li Y., Read D.J. et al. Neuropathy Target Esterase and a Homologous Drosophila Neurodegeneration-Associated Mutant Protein Contain a Novel Domain Conserved from Bacteria to Man. *Biochem. J.* 1998;**332**(1):1–4. <https://doi.org/10.1042/bj3320001>
211. Kretzschmar D., Hasan G., Sharma S. et al. The swiss cheese mutant causes glial hyperwrapping and brain degeneration in *Drosophila*. *J. Neurosci.* 1997;**17**(19):7425–7432. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-19-07425.1997>
212. Bettencourt da Cruz A., Wentzell J., Kretzschmar D. Swiss Cheese, a protein involved in progressive neurodegeneration, acts as a noncanonical regulatory subunit for PKA-C3. *J. Neurosci.* 2008;**28**(43):10885–10892. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3015-08.2008>
213. Fasano M., Curry S., Terreno E. et al. The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin. *IUBMB Life*. 2006;**57**(12):787–796. <https://doi.org/10.1080/15216540500404093>
214. van der Vusse G.J. Albumin as fatty acid transporter. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2009;**24**(4):300–307. <https://doi.org/10.2133/dmpk.24.300>
215. Sudlow G., Birkett D.J., Wade D.N. Further characterization of specific drug binding sites on human serum albumin. *Mol. Pharmacol.* 1976;**12**(6):1052–1061.
216. Zsila F. Subdomain IB is the third major drug binding region of human serum albumin: toward the three-sites model. *Mol. Pharm.* 2013;**10**(5):1668–1682. <https://doi.org/10.1021/mp400027q>
217. Petitpas I., Petersen C.E., Ha C.E. et al. Structural basis of albumin-thyroxine interactions and familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003;**100**(11):6440–6445. <https://doi.org/10.1073/pnas.1137188100>
218. Belinskaia D.A., Voronina P.A., Shmurak V.I. et al. The Universal Soldier: Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant Functions of Serum Albumin. *Antioxidants (Basel)*. 2020;**9**(10):966. <https://doi.org/10.3390/antiox9100966>

219. Qiu H.Y., Hou N.N., Shi J.F. et al. Comprehensive overview of human serum albumin glycation in diabetes mellitus. *World J. Diabetes*. 2021;**12**(7):1057–1069. <https://doi.org/10.4239/wjd.v12.i7.1057>
220. Belinskaia D.A., Voronina P.A., Vovk M.A. et al. Esterase Activity of Serum Albumin Studied by ¹H NMR Spectroscopy and Molecular Modelling. *Int. J. Mol. Sci*. 2021;**22**(19):10593. <https://doi.org/10.3390/ijms221910593>
221. Belinskaia D.A., Batalova A.A., Voronina P.A. et al. Modulation of Albumin Esterase Activity by Warfarin and Diazepam. *Int. J. Mol. Sci*. 2024;**25**(21):11543. <https://doi.org/10.3390/ijms252111543>
222. Batalova A.A. *Modulyatsiya svyazyvayushchey i esteraznoy aktivnosti syvorotochnogo albumina* [Modulation of binding and esterase activity of serum albumin] [Dissertation]. Crimea; 2023. (In Russ.)
223. Belinskaia D.A., Koryagina N.L., Goncharov N.V. et al. Structure-Dependent Mechanism of Organophosphate Release from Albumin and Butyrylcholinesterase Adducts When Exposed to Fluoride Ion: A Comprehensive In Silico Study. *Int. J. Mol. Sci*. 2023;**24**(19):14819. <https://doi.org/10.3390/ijms241914819>
224. He X.M., Carter D.C. Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature*. 1992;**358**(6383):209–215. <https://doi.org/10.1038/358209a0>
225. Sakurai Y., Ma S.F., Watanabe H. et al. Esterase-like activity of serum albumin: characterization of its structural chemistry using *p*-nitrophenyl esters as substrates. *Pharm. Res*. 2004;**21**(2):285–292. <https://doi.org/10.1023/b:pham.0000016241.84630.06>
226. Derelanko M. *The Toxicologist's Pocket Handbook*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2008.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Гончаров Николай Васильевич – д-р. биол. наук; зав. лабораторией; гл. науч. сотр., Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация;
доц. кафедры биологической химии, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: ngoncharov@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5452-2125>

Белинская Дарья Александровна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр., Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: d_belinskaya@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7850-8555>

Воронина Полина Александровна – мл. науч. сотр., Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: p.a.voron@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4797-3654>

Самодурова Камила Владимировна – ст. лаборант, Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: kamila_sam22@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0005-0706-1265>

Поступила в редакцию 11.11.2025
После доработки 23.11.2025
Принята к публикации 30.11.2025

ABOUT THE AUTHORS

Goncharov, Nikolay V. – Ph.D. (Biology); Head of Laboratory; Chief Scientist Researcher, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation;
Associate Professor at the Department of Biological Chemistry, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation,
Saint Petersburg, Russian Federation
E-mail: ngoncharov@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5452-2125>

Belinskaya, Daria A. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
Saint Petersburg, Russian Federation
E-mail: d_belinskaya@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7850-8555>

Voronina, Polina A. – Research Assistant, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation
E-mail: p.a.voron@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4797-3654>

Samodurova, Kamila V. – Senior Laboratory Assistant, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
Saint Petersburg, Russian Federation
E-mail: kamila_sam22@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0005-0706-1265>

Received November 11, 2025
Revised November 23, 2025
Accepted November 30, 2025