

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. дхн Васил Борисов Делчев, кат. Физикохимия, ПУ "П. Хилендарски"
на материали по защита на дисертационен труд за придобиване на
ОНС „доктор“ във Факултета по химия и фармация, СУ

Област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика

Професионално направление: 4.2. Химически науки

Научна специалност: Теоретична химия

Докторант: Николай Ангелович Тошев

Тема на дисертационния труд: „Теоретично изследване на факторите, управляващи процесите на свързване и селективност на инхибитори на хистон деацетилазата“

Научни ръководители: проф. дхн Тодор Дудев и доц. д-р Диана Чешмеджиева- ФХФ

Заповед на Ректора на СУ за определяне състава на научното жури: **РД-38-20/27.04.2021 г.**

Решение на първото заседание на НЖ, проведено на 19.05.2021 г.: **да изготвя рецензия.**

Представените от кандидата материали по конкурса за придобиване на ОНС „доктор“ са налични в електронен вариант в *Google drive* и включват следните файлови документи: 1) молба за допускане до предварително обсъждане на дисертационния труд; 2) автобиография по образец; 3) удостоверение за положени изпити по време на докторантурата; 4) заповеди за зачисляване (РД-20-954/7.07.2017) и отчисляване (РД-20-1315/2.09.2020) в и от докторантура, както и такава за трансформация на докторантурата от редовна в задочна (РД-20-2105/ 25.11.2019); 5) дипломи за завършено висше образование – две за бакалавър (химик и икономист) и една за магистър (химически науки); 6) три статии, включени в дисертацията; 7) дисертационен труд; 8) автореферат.

Биографични данни

Магистър Тошев е роден в гр. Череповец - СССР, има българско и руско гражданство. Приложената автобиография на кандидата показва, че той има разностранни интереси, като химията се очертава приоритетна! През 2015 г. кандидатът се дипломира с бакалавърска степен от СУ с профил „Аналитична химия“. Паралелно с обучението си в професионално направление Химически науки, г-н Тошев завършва (през 2016) спец. Финанси (задочна форма на обучение) в СА „Д. А. Ценов“ – гр. Свищов. След две години придобива магистърска степен по специалност „Съвременни спектрални и хроматографски методи за анализ“, квалификация „Магистър по инженерна химия“. От 2017 г. е зачислен (заповед РД-20-954/7.07.2017) в редовна докторантура по научната специалност Теоретична химия, с научни ръководители проф. дхн Т. Дудев и доц. дбн Й. Хубенова (БАН). С ректорска заповед от 2019 г. за втори научен ръководител е определена доц. д-р Д. Чешмеджиева. Същата година докторантът е прехвърлен в задочна форма на обучение. През 2020 г. той е отчислен с право на защита.

От 2005 г., с малки прекъсвания, Н. Тошев трупа трудов стаж в различни търговски компании (*Office 1 Superstore*, Райфайзен и др.) като понастоящем живее в гр. Москва, Руска федерация и работи като асистент в катедрата по Стокознание и стокова експертиза на Факултета по икономика и стокова експертиза, Руски икономически университет „Г. В. Плеханов“.

Познаване на проблема

Уводът заедно с литературния обзор са разположени на 21 страници в дисертацията. Последният обхваща 77 източника, което е малко над 50 % от общия брой на цитираните източници. От тях 36 % са публикации от последните 10 години.

На стр. 7 в уводната част е формулирана целта на дисертацията. С частични изменения (добавен е методът на изследване – DFT) тя е повторена отново на стр. 34. Считам, че би могло да се избегне формулирането на цел в увода, тъй като за това е отделена цяла глава, а вместо това да се даде по-обща насока към проблема, който се изследва.

В литературния преглед са засегнати важни въпроси като последствията от нарушаването на баланса на ацетилирането и деацетилирането на хистоните, което води до развитие на редица заболявания (онкологични, неврологични, имунни и др.). Отбелязано е още, че TSA (трихостатин А) има 30 пъти по-висока инхибиторна активност от SAHA. Би било интересно да се разбере, дали са налични сравнителни структурни данни, които да обясняват тази разлика в активността на двете съединения!

Структурите на инхибиторите на хистон деацетилазите са систематизирани в таблица 3, като е посочен текущият статус на клиничните тестове с тях. Данните водят към извода, че SAHA е надежден инхибитор, представител на хидроксамовите киселини. Той показва антиракова активност при хематологични и солидни тумори и се понася добре от пациентите. В обзора са коментирани структурните единици на инхибиторите на хистон деацетилазите като са цитирани известни три- и четирицентрови модели.

В точка 15 от литературния обзор авторът е отбелязал по-важните подходи и предизвикателства при разработване на нови инхибитори на хистон деацетилазата. Очевидно теоретичното моделиране е начален и важен етап при разработване на нови инхибиторни структури, което е насочило докторантът към използване на този подход за изследване на факторите, управляващи афинитета и процесите на свързване на инхибиторите на хистон деацетилазата. Несъмнено е подбрана актуална област на изследване с голям потенциал за приложение в медико-терапевтичната практика.

Методи на изследване

За постигане на поставените цели на дисертационния труд е използвана теорията на функционала на плътността - хибридният функционал B3LYP. В глава III са представени доста подробно основните положения на теорията. Тази част би могла да се редуцира драстично. За сметка на това можеше да се даде повече информация за използвания функционал, както и да се сравнят геометрични и енергетични величини с такива, получени с други функционали или *ab initio* методи. Подобни работи има немалко в научната литература! Освен това, в текста на дисертацията очаквах да видя кратък текст за използвания модел на разтворителя.

Оптимизациите на SAHA и нейните сяра- и селенсъдържащи производни са извършени с валентно-разцепения базисен набор 6-311++G(d,p), а изчисленията на ензим-инхибиторните комплекси са проведени с 6-31+G(d) базисни функции. Намирам описанието на базисните функции в глава III (точки 2 – 6) също за прекалено подробно.

В точка 2 на глава V дължините на връзките M-L, получени с B3LYP/6-31+G(d) на шест комплекса на Zn^{2+} , Fe^{2+} и Mg^{2+} са сравнени с техните експериментални стойности. Очевидно от гледна точка на геометричните величини тази комбинация метод/базис е добро приближение. Според мен същото калибриране би трябвало да се направи и с енергетични величини – спектрални данни за тези или други комплекси. Така подборът на метод и базис за изследванията в дисертацията би бил по-добре мотивиран.

Анализ на резултатите в дисертацията

Резултатите от теоретичните изчисления са представени на 40 страници (~45 %) от дисертацията. Дискусията им в текста е направена компетентно и с разбиране дълбочината на проблема. В първата част на глава V са описани резултати от изследвания на комплексите на SAHA и нейните сяра- и селенсъдържащи аналози (при азотния атом и при карбонилната

група) с цинкови йони и допълнителни молекули вода като лиганди. Афинитетът на органичните лиганди към комплексообразувателя е оценен чрез изменението на изобарните потенциали на реакциите на заместване на Zn^{2+} с Fe^{2+} и Mg^{2+} от техните аквакомплекси.

В изпълнение на поставената цел I са изследвани също процесите на депротониране на молекулата на SAHA и сяра- и селенсъдържащите ѝ производни в „главата“ на молекулата, т. е. в свързващата ѝ с металните йони част. Дискусията е направена отново по измененията на изобарните потенциали както в газова фаза, така и в среда с диелектрични константи $\epsilon=33$ и $\epsilon=78$.

В изпълнение на цел II са изучени реакциите на свързване на подбрани хидроксамови киселини с активния център на ензима HDAC8. Тази част е описана на 11 страници от глава V на дисертацията. Активният център на ензима е моделиран като е използвана кристалната структура на ензим-инхибиторния комплекс от PDB с код 4QA0* (<https://www.rcsb.org>), но липсва цитат на публикацията с кристалографски данни. В изследването са включени повърхностните аминокиселинни остатъци от активния център, както и комплексно свързаната молекула SAHA в него. Тествани са 15 инхибитора (с и без линкерната част в молекулите) и тяхното свързване в активния център на ензима, чрез заместване на SAHA от ензим-инхибиторния комплекс. Оценено е влиянието на различни части от инхибитора върху здравината на получените комплекси на заместване.

Резултатите са онагледени с достатъчен брой таблици (17 броя), фигури (16 броя) и схеми (6 броя) и са подробно коментирани в текста. Материалът е разбираемо описан и структуриран. В края на дисертацията (глава VI) са формулирани десет извода, които са групирани съгласно цел I и II.

Публикации, цитирания и участия в научни форуми

По резултатите от дисертацията са отпечатани три научни публикации, всички в реферирани и индексирани специализирани научни издания. Две публикации са в международни списания с квартали Q3 и една в *Bulgarian Chemical Communications* – с квартал Q4. Така по показател Г от Препоръчителните критерии на СУ кандидатът събира 42 точки, което е с 12 точки повече от изискуемия минимум. Сумарният импакт фактор на списанията, в които докторантът публикува е 3,12.

Забелязаните цитирания на публикациите в дисертацията са три. Те цитират една от статиите, публикувана през 2018 г.

Н. Тошев е представил своите изследвания на осем конференции с устни доклади. Три от тях са изнесени на научни форуми, проведени в Руската федерация – Суздаль, Нижни Новгород и Иваново. Докторантът участва в два проекта, финансирани от ФНИ – един приключил и един настоящ по програма за двустранно сътрудничество България – Русия.

Автореферат

Представеният автореферат е разположен на 59 страници. Той съдържа увода, целта и задачите на дисертационния труд, обсъждане на резултатите, изводите и списъци с публикации, цитати и участия в конференции. Моето виждане е, че авторефератът би могъл да се съкрати значително, като в него останат само най-важните моменти от дисертацията. Въпреки това уважавам виждането на автора и научните му ръководители и го приемам и в този вид.

* C. Decroos et al. *ACS Chem. Biol.* 2014, 9, 9, 2157–2164. DOI: 10.1021/cb5003762

Приноси и значимост на изследванията

Дисертацията разглежда актуални и значими за науката въпроси, които са ориентирани към човешкото здраве. Намирам, че резултатите биха могли да се използват за синтез на нови потенциални инхибитори на ензима HDAC8. Обикновено, изследвания от този род са първата стъпка към разработване на нови лекарствени препарати, в частност инхибиторни медикаменти. Дисертацията има принос към фундаменталните научни изследвания на реакционни механизми с ензими, които имат потенциал за медико-терапевтични приложения. Основните приноси са:

- изясняване на механизмите на комплексообразуване на биогенни метални йони с SAHA и нейни S- и Se-съдържащи производни в свързващата група при реакции на заместване, чрез анализ на свободните енергии на Гибс;
- изясняване на афинитета на свързване на различни инхибитори – хидроксамови киселини, с и без линкерна част, чрез анализ на енергиите на заместване на SAHA в активния център на ензима.

В глава VIII очаквах да видя систематизирани по-важните приноси на дисертацията и коментар на потенциалното практично приложение на изследванията!

Критични бележки и препоръки

В първата точка на глава V са дадени уравнения (13 и 14), по които се твърди, че са изчислени изменението на енталпията и свободната енергия на Гибс. В тази връзка е интересно да се разбере как е намерена обемната работа $p\Delta V$ и изменението на ентропията.

Изобарните потенциали на реакциите от таблица 14 са определени в текста над нея като „термодинамични параметри“, което е некоректно. Те трябва да се означат като термодинамични функции или по-общо термодинамични величини. Както се знае, термодинамичните параметри на една система са опитно измерими величини като налягане, температура и други, чрез които се намират термодинамичните функции.

Относителните енергии на Гибс на тавтомерите на SAHA, посочени в таблица 5 (стр. 41) не би трябвало да се означават със символа Δ , който има своето еднозначно значение в химичната термодинамика. Това са стойности, отнесени спрямо изчислената свободна енергия на 1Z тавтомера в газова фаза и разтворители. Същата забележка се отнася и за другите таблици с относителни изобарни потенциали и енергии (E) в глава V.

Налице са някои тривиални изводи, които са известни *a priori*. Например изводът на стр. 50 (последните няколко реда), че връзката N-O е по-къса от N-S и N-Se. Не е нужно да се провеждат изчисления, за да се стигне до него! Достатъчно е да се прецени мястото на химичните елементи O, S и Se в Периодичната система.

За бъдещите изследвания би било интересно да се уточни, например за железните съединения, какви комплекси се образуват между лигандите и комплексообразувателя – ниско- или високоспинови. Това се разбира лесно като се проведат изчисления на структурите с различна спинова мултиплетност. След това може да се коментира също силата на лигандното поле, създадено от SAHA или нейните сяра- и селенсъдържащи аналози.

Познавам лично Н. Тошев още от ученическите му години, а по-късно и от неговото следване в Химическия факултет на ПУ. Като ученик, той се отличаваше с голямо упорство и хъс в усвояване на химичното знание. Г-н Тошев има значителни постижения на химични олимпиади (на различно ниво) и национални състезания. Предвид неговия динамичен и бурен професионален и житейски път не бих се изненадал, ако в близко бъдеще магистър Н. Тошев защити още една дисертация в областта на икономическите науки!

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд дискутира актуални за науката проблеми с фундаментален характер, а вероятно и с медико-приложен такъв в бъдеще. Нямам съмнения относно личния принос на докторанта към проведените изследвания и коментирания резултати под компетентното наставничество на научните ръководители. Следейки развитието на Николай Тошев през годините смятам, че той има огромен потенциал за академична кариера, който трябва да бъде разгърнат, за което му пожелавам успех! Относно формалната част на процедурата декларирам, че всички представени материали са в съответствие с изискванията на ЗРАС в РБ, неговите правилници и Препоръчителните критерии на ФХФ при СУ. По силата на тези нормативни актове и избора ми за член на настоящото НЖ от ФХФ и Ректора на СУ, убедено давам своята **положителна оценка** за присъждане на ОНС “доктор” на г-н Николай Ангелович Тошев в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление: 4.2. Химически науки; научна специалност: Теоретична химия.

10.06.2021 г.
гр. Пловдив

Рецензент: