

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. д-р. Веселин Димитров Тончев

Институт по Физикохимия „Акад. Ростислав Каишев“ – БАН

върху

Дисертационен труд на

Николета Георгиева Иванова

на тема:

**„ИЗСЛЕДВАНЕ ПРОНИКВАНЕТО НА
ПЕПТИД-ЛЕКАРСТВЕН КОМПЛЕКС ПРЕЗ МОДЕЛНИ
КЛЕТЪЧНИ МЕМБРАНИ“**

за придобиване на образователна и научна степен **„ДОКТОР“**

Научен ръководител: **доц. д-р Анела Иванова**

I. Данни за докторантката

Николета Георгиева Иванова е родена през 1989. През юни 2008 тя завършва НПМГ. През юли 2012 г. се дипломира като бакалавър в ФХФ - СУ (Компютърна химия), а през март 2014 г. вече е магистър от същия факултет със специалност „Дисперсни системи в химичните технологии“. От юли 2014 г. до юли 2017 г. е редовен докторант по теоретична (квантова) химия в катедрата по физикохимия, и е отчислена с право на защита. Като докторант е посещавала курсове по молекулна механика и молекулна динамика и Монта Карло.

Представеният ми за рецензия труд е едно подробно и пълноценно изследване. Предполагам, че той ще е само начало в плодотворна съвместна работа на докторантката и ръководителката ѝ.

II. Дисертацията в числа

Представената за рецензия **дисертация** на тема „ИЗСЛЕДВАНЕ ПРОНИКВАНЕТО НА ПЕПТИД-ЛЕКАРСТВЕН КОМПЛЕКС ПРЕЗ МОДЕЛНИ КЛЕТЪЧНИ МЕМБРАНИ“ е написана на 142 страници и се състои от раздел 1 Увод, седем глави, номерирани от 2 до 8, раздел 9 е за заключенията, а раздел 10 е за приносите. Раздел 7 Литература съдържа 249 цитирани източника, което е откъд очакванията за подобен труд. Уравненията в дисертацията, общо 49, следват единна номерация. Фигурите са 56, номерирани последователно. Има и 6 таблици.

Авторефератът е изготвен върху 56 стр. и има същата структура като дисертацията. Номерациите на фигурите и таблиците следват тези в дисертацията, литературните източници са преномерирани, а уравнения няма.

Авторефератът и дисертацията са написани с вещина, липсват дразнещите, но обичайни за такива трудове граматически грешки.

Дисертацията е построена върху оригинални резултати, които засега не са публикувани. Засега е публикувана една обзорна статия в списание Химия. В нея Николета Иванова е първи автор. Обзорът е илюстриран с резултати от симулации на други автори, т.е. той се явява предварителен спрямо оригиналните резултати,

включени в дисертацията. Последната фигура от обзора (Фиг. 5, също и Фиг. 7 от дисертацията) всъщност подсказва намеренията, заложи в изграждането на дисертационния труд в едно ново за групата направление.

Тук ще отбележа и една принципна слабост на дисертацията. Макар още в увода да става дума за проникване на терапевтичен агент в болни клетки и как това се осъществява в лечебната практика, те не са различени като такива в представените по-нататък резултати. Едновременно с това, въпросът с разпознаването и различаването на болните клетки от здравите е ключов – липсва ли избирателност в терапевтичното действие, това би усилило и отрицателните странични ефекти вместо да ги намали до една търпима степен. Имам уверенията на ръководителката на дисертантката, че този проблем е осмислен и работата в момента продължава именно в такава една насока. Така, представените в дисертацията изследвания могат да бъдат разгледани и като предварителни, но неизбежни, спрямо текущото направление на изследванията.

В края на този раздел от рецензията предлагам и един стегнат начин за запознаване с дисертацията - започвайки от приносите (гл. 10) и заключенията (гл. 9) и след сравнение с целите (Увод, стр.6), да се проследи как са постигнати тези цели и доколко е правомерна претенцията на приносите.

III. Дисертацията – намерения и изпълнение

В глава 2 е направен литературен обзор върху системите за пренос на лекарствени в-ва, пептидите преминаващи през мембрани и състава и свойствата на еритроцитната мембрана – състав, фазови състояния и трансмембранен потенциал.

Изчислителните методи като теоретични основи, а именно молекулна механика и молекулна динамика, са представени в глава 3 като специално внимание е отделено на схемите за наблюдение и анализ на резултатите. В кратката, състояща се от само 5 страници, глава 4 е отделено внимание на атомистичните молекулно-динамични модели. Там е представен комплексът DOX-CPP, за който, според източник 84 е потвърдено, че преминава през клетъчните мембрани и води до увеличаване на концентрацията на терапевтик в клетките. Интересно е да се провери дали това

докладвано действие е селективно. Пак в тази глава е набелязано и симулирането на два типа липидни бислоеве – един съставен само от DPPC и друг, наречен *смесен* – съставен от няколко вида липидни молекули. Показани са началните конфигурации на двата бислоя (Фигура 24). Глава 4 завършва с кратко описание на изчислителния протокол.

В глави 5, 6 и 7 са представени подробни изследвания на влиянието на метода за скалиране на налягането, на периодичните гранични условия и на симулациите от вида *umbrella sampling*.

Глава 5 е посветена на съществен проблем в молекулно динамичните симулации – как се прескалира (мащабира) налягането. Този проблем е представен в т.3.3 и илюстриран удачно на Фигура 17. За страничния наблюдател липсата на установен и единствен метод за прескалиране на налягането може и да изглежда слабост, но пък осмислянето на проблема и то с интензивни симулации, както е направено в гл. 5, дава едно разнообразие от възможности. Именно равнението на последствията от избора на различните възможности (фигури 25-39) дава основанията за избор на метод за скалиране – изотропното мащабиране.

Глава 6 е илюстрация на нетривиалността в избора на периодични гранични условия – тримерни спрямо двумерни и различните последствия от този избор отново са илюстрирани с интензивни симулации (фигури 40 – 48). Изводът от тези изчисления не е еднозначен – влиянието на PBC не е толкова драстично като влиянието на мащабирането на налягането, което пък значи, че използваните за симулациите моделни системи не са *малки*.

Глава 7 е посветена на т.нар *Umbrella sampling* симулации. Какво значи този малко необичаен термин е обяснено в т. 3.5 – а именно насочване на изследваната частица в посока преминаване на слоя в нормално направление. Именно дългото описание на термина оправдава и запазването му на английски. Съставени са три модела на „дърпане“ и разликите в последствията им са проследени на фигури от 49 до 52. Важен извод от тази глава е невъзможността за излизане от простия бислой на частица от комплекса след достигане на хидрофобната част от слоя.

Тези, по същество предварителни спрямо същинските, изследвания, гл. 5-7, най-пълно отразяват постигнатия по време на докторантурата напредък в усвояването и

прилагането на основния инструмент за изследване – молекулно-динамичните симулации. Те също изграждат убедителна основа и прокарват пътя към това, което ще се случи в иначе кратката (6 стр.) глава 8, съдържаща резултати по проникването на комплекса DOX-CPP в смесена мембрана с тримерни периодични условия и изотропно мащаниране на налягането. Наблюдавано е добро навлизане на комплекса (средна скорост 0.54 нм/микросек.). Глава 8 е и главата, която всъщност отговаря на обещанието, заложено в заглавието.

Така стигаме и до глава 9 Заключение, която стегнато отразява обобщенията на предишните глави. Глава 10 е за приносите и на тях се спирам по-долу.

IV. Забележки по изпълнението

Предвид богатството от резултати няма да си позволя да правя забележки по изпълнението, защото пълноценното навлизане в детайлите на тези резултати би изисквало сходна инвестиция в термините на компютърно и лично време. Има и една допълнителна причина - обикновено рецензирането на такива големи по обем трудове е облекчено от това, че те са изградени върху публикации, всяка от които е преминала през сериозно рецензиране.

V. Претенции на дисертацията

Тук ще се спра на приносите, както са формулирани в гл. 10:

„1. Установено е поведението на смесени липидни бислоеве при физиологична температура и налягане в слабо изследвана до момента фазова точка и са открити разликите спрямо еднокомпонентен липиден модел.

2. Съставен е модел на смесен липиден бислои с хомогенно разпределение на молекулите и е показано влиянието на състава за навлизането на лекарствения комплекс в мембраната.

3. Забелязани и коментирани са ефекти, които досега не са наблюдавани поради липсата на толкова дълги симулации (1 μ s), а именно – flip-flop на отрицателно заредени липидни молекули между двата монослоя на мембраната и реализиране на

„нежелан“ фазов преход на втвърдяване на мембраната при полуизотропен метод за скалиране на налягането, който не позволява навлизане на комплекса. Това позволи да се заключи, че наличието на течно подредено състояние на мембраната е ключово за транспортния процес.

4. Получена е информация за механизма на навлизане на пептид-лекарствения комплекс в клетъчната мембрана и е дадена оценка за енергетичните бариери и характеристикния времеви период, от който да се определи продължителността на такъв транспортен процес.

5. Проведена е атомистична МД симулация с продължителност 3 μ s, като до момента не е получавана такава.“

Разбирайки напълно, а и споделяйки, възторга от техническата възможност да се извършат толкова дълги симулации – цели 3 μ s, ще си позволя да не приема принос 5 като самостоятелен. Акцентът върху това, че симулацията е атомистична, позволява да бъде зададен и въпросът – какъв би бил ефектът от прилагането на укрупнени молекулно-динамични модели и техните симулации за сходни времена? Едновременно с това, формулирането на принос 5 е още един знак за засилено методическия, предварителен характер на настоящата работа, което съждение не омаловажава останалите 4 приноса. Тях аз приемам напълно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният ми дисертационен труд на тема „ИЗСЛЕДВАНЕ ПРОНИКВАНЕТО НА ПЕПТИД-ЛЕКАРСТВЕН КОМПЛЕКС ПРЕЗ МОДЕЛНИ КЛЕТЪЧНИ МЕМБРАНИ“ е завършек на дълъг път и представлява задълбочено и богато на резултати изследване с приложение метода на молекулната динамика в модерна и перспективна област, отговаряща и на новите акценти в тематичната ориентация на ФХФ - СУ. Доведен до край, този подход има потенциала да се превърне в мощен, алтернативен на експериментите, инструмент за получаване на съществени знания за биологични явления и био-медицински процеси, трудно познаваеми в реалността. Представяйки работата на този етап, дисертантката и ръководителката ѝ проявяват определен кураж и това следва да им бъде признато.

Така, с оглед на реалните приноси, съдържащи се в дисертацията, препоръчвам на членовете на научното жури да гласуват в полза на присъждането на Николета Георгиева Иванова на образователната и научна степен „доктор“. Същото ще направя и аз.



София, 01.10.2017 г.

/доц. д-р Веселин Тончев/