

РЕЦЕНЗИЯ

**на дисертационния труд на Гургана Пламенова Гочева
на тема „Моделиране на насочването на лекарствени комплекси към
клетъчни рецептори”, представен за присъждане на образователната и
научна степен „доктор”**

Рецензент: проф. дхн Иван Панайотов

Темата на дисертацията на Гургана Гочева е в една област на теоретичната химия с важно фундаментално и приложно значение - молекулно моделиране на векторното администриране на лекарствени форми. Дисертацията е успешно продължение на изследванията в тази област провеждани в групата по теоретична химия на катедрата по физикохимия. Вниманието в настоящото изследване е насочено към молекулното моделиране на насочване на лекарство-преносна система (DDS – Drug delivery system) към моделна ракова мембрана с вграден α -фолатен рецептор. Преносната система е конструирана от съответния векторен лиганд – фолиева киселина (FA) или производни и пептидлекарствения комплекс (DBP-4DOX), предложен в предшестващите дисертацията изследвания.

В литературния обзор в глава 2 много компетентно е изложено известното в литературата за лиганд-рецепторните двойки, използвани за активно насочване на лекарствени вещества, както и най-същественото за мембранните бислоеве.

В глава 3 са описани принципите на метода на молекулната динамика, използван за постигане на целите поставени в дисертацията. Направеният в глави 2 и 3 преглед, основаващ се на 267 източника, доказва много сериозните познания на дисертантката в областта на изследванията й.

Резултатите от изследванията са представени в глави 4-8. Ще изложи някои от най-съществените, заедно с бележките и коментарите си към тях.

Конформационният анализ е проведен с помощта на подходящи програмни продукти и суперкомпютърни системи. По друг повод отбелязах, че от времето на

пионерните изследвания на конформационния анализ на асоциирани в липидни слоеве пептиди, например [1] е изминат дълъг път довел до използваните в дисертацията подходи. Проведени са MD симулации на лигандите, на моделната мембрана с вграден α -фолатен рецептор, както и на пептид-лекарствените комплекси в присъствие на мембраната с вграден рецептор. Направеният анализ позволява определянето на някои геометрични параметри на лигандите, като средното квадратично отклонение (RMSD), разстоянието глава-опашка (R_{HT}), определянето на профилите на плътността нормално на билипидния слой и основните му характеристики, като параметър на порядъка и др. За утвърждаване на развитите модели е полезно съпоставянето на тези характеристики с резултати, получени по традиционните експериментални методи за изследване на 2D липидни и липид-протеинни системи - повърхностно налягане, потенциал, еластичност, вискозитет, морфология и др. Там, където това е направено, напр. относно площите заети от индивидуалните фосфолипидни молекули, съпоставянето утвърждава използването на модела на смесения бислои. Да добавя, че сравнението, което направих с данни за параметъра на порядъка от монографията на Ивков и Берестовски [2] показва също добро съгласие с представените данни.

Изследванията, представени в глава 8 са заключителния акорд на дисертацията поставила си за цел моделиране на насочването на конструирания лекарствен комплекс FA-DBP-4DOX към бислои моделиращ мембрана на ракови клетки, включваща α -фолатен клетъчен рецептор. Изследвана е кинетиката на приближаването на комплекса към бислоя с вграден рецептор и взаимодействията между тях. За оценка на подвижността на компонентите на комплекса на Фиг. 55 е представена еволюцията на RMSD. Въпроси: С каква математическа процедура са определени времената за достигане на конюгатите до рецептора? Доколко сравнението между RMSD профилите на лиганда MTHF, показани на Фиг. 56 и 51, показва значително по-голяма имобилизация в присъствие на мембрана?

На Фиг. 59 кинетиката на взаимодействието е представена с еволюцията на броя на контактите между рецептора и лиганда/пептида. Предложена е интерпретация на данните в случая на FA-DBP-4DOX –пептид, като резултат от дисоциация и асоциация на лекарственото вещество. Въпрос: Възможна ли е алтернативна интерпретация на кинетичната зависимост в два последователни етапа: от 0 до 30 ns дифузия на комплекса към бислоината мембрана; след 30 ns реорганизация на пептида в силовото поле на бислоя

с характерно време $\tau \approx 100$ ns, което може да се определи от кинетичната зависимост? Една такава представа може да бъде подкрепена от оценка по Айнщайн ($x^2 = 2Dt$) на дифузионния коефициент D на агрегата, изминаващ разстояние $x = 2$ nm за $t = 30$ ns във водната среда от първоначалната си позиция до бислоя и сравнението му със стойност за D , определена от размера му ($r = 2,2$ nm) по Нерст ($D = kT/6\pi\eta r$). Оценката с горните данни дава за D приблизително еднакви стойности $6,7 \cdot 10^{-7}$ cm²/s, съотв. $9,5 \cdot 10^{-7}$ cm²/s. Този резултат е в подкрепа на представата за режим на дифузия във водна среда през първия етап на кинетиката от 0 до 30 ns.

Накрая ще отбележа, че в дисертационния труд Гергана Гочева успешно обобщава значителен брой достоверни резултати. Интерпретацията им, която тя представя звучи като правило убедително. Ще отбележа все пак някои твърдения, които звучат спорно. На стр. 48 се твърди, че мембранните бислоеве са с поведение на вискозна течност (вж, по-долу). На стр. 164 е необосновано твърдението, че лекарстводоставящата система, бидейки стабилна във физиологичния разтвор ще запази това си поведение и в кръвния поток. Всъщност, в кръвната плазма, тя е субект на голям брой взаимодействия, например ензимни такива.

Накрая, един въпрос извън рамките на дисертацията. Известно е, че реологичното поведение на бислойна мембрана т.е. как тя се деформира или тече в отговор на приложено напрежение (пертурбация на двумерното налягане в резултат на механични или химични взаимодействия) е важна и чувствителна мембранна характеристика (включително и за индикация на патологични състояния). В зависимост от начина и характерното време, при които е приложено напрежението, определен брой от независими двойки от еластични и вискоеластични коефициенти описват капацитивния и дисипативния отговор на бислоя. Например, информация за реологичното поведение при характерни времена в интервала 1 ms – 1 μ s се получава от анализа на капилярните термични флукуационни вълни. Въпрос: Възможно ли е да се получи с методите на молекулната динамика информация за реологичното поведение на бислоя при характерни времена в интервала 1 μ s – 1ns?

В заключение, представените в дисертацията резултати са с фундаментално и приложно значение. Получената информация на молекулно ниво дава насоки за по-ефективно конструиране на лекарство-преносни системи, базирани на фолиева киселина. Резултатите са представени на 5 в България и 1 в Швейцария научни конференции и

семинари и са оформени в 5 публикации в международни списания. Сигурен съм, че работите на Гергана Гочева ще намерят много добър прием в научната общественост.

Оформлението на дисертационния труд е много добро. Незначителен е броят на допуснати грешки, например ns вместо nm в мащаба на Фиг. 55. Прави отлично впечатление голямото внимание, с което се използва и налага сложната научна терминология в областта. Похвален е и стремежът да се запази българския език в понятията, там където това е възможно. Например „насочена доставка“, вместо промъкващото се в езика „векторно администриране“, което за илюстрация запази в рецензията си.

Авторефератът е направен съгласно изискванията и правилно отразява основните резултати и приноси на дисертационния труд.

Представената ми за рецензия дисертация напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за приложението му и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски“ Въз основа на всичко изложено до тук препоръчвам на уважаемото жури да присъди единодушно на Гергана Пламенова Гочева образователната и научна степен „доктор“.

Литература

1. R. Brasseur, H. De Loof, J.M. Ruyschaert, M. Rosseneu - Biochemica et Biophysica Acta, 943 (1988) 95.
2. Б.Г. Ивков, Г.Х. Берестовский -Динамическая структура липидного бислоя, изд. „Наука, Москва, 1981.

София, 10.12.2019 г.

проф. дхн Ив. Панайотов