

РЕЦЕНЗИЯ

от доц д-р Петко Петков

СУ “Св. Кл. Охридски” Факултет по Химия и Фармация

Относно

дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен

'доктор' в професионално направление: 4.2 Химически науки,

специалност „Теоретична химия – Квантова химия“,

Представен от **Гергана Пламенова Гочева**

На тема:

*МОДЕЛИРАНЕ НА НАСОЧВАНЕТО НА ЛЕКАРСТВЕНИ КОМПЛЕКСИ КЪМ
КЛЕТЪЧНИ РЕЦЕПТОРИ*

1. Общо представяне

Докторант Гергана Пламенова Гочева е завършила висше образование в Химически факултет на Софийски университет „Св. Кл. Охридски“, бакалавърска степен през 2014 и магистър през 2016 г. От 01.07.2016 г. Гергана Гочева е зачислена като редовен докторант в Софийски университет „Св. Климент Охридски“, Факултет по химия и фармация, Катедра Физикохимия с ръководител проф. Анела Иванова. Считано от 01.07.2019 г. е отчислена с право на защита. Докторант Гергана Гочева е представила дисертационен труд, който съдържа 186 страници (вкл. заглавна страница, благодарности и съдържание общо 4 стр.).

Дисертационният представя едно изчерпателно молекулно-динамично моделиране на процеса на пренос на противотуморно лекарство доксорубицин през модел на мембрана на ракова клетка с използване на лекарство-преносни системи. През последните години лекарство-доставящите системи са много широко изследвани обекти поради потенциално по-ниските нежелани странични ефекти на лекарствените субстанции върху организма.

Дисертацията е структурирана, както следва:

- Увод, в който са представени целите на дисертационния проект;
- Литературен обзор – изключително детайлен обзор включващ
 - Системи за насочен лекарствен транспорт
 - Лиганд-рецепторни двойки в активното насочване
 - Клетъчни мембрани
- Изчислителни методи – обхваща методите на молекулната динамика и методика за обработка на резултатите.
- Изследвани атомистични модели и изчислителен протокол – дефинирани са основните обекти на изследване и е установен изчислителният протокол към всеки от тях;
- Резултати – разделени в 4 глави, 3 глави за всяка от подсистемте, обект на изследване и една глава за цялата лекарство-доставяща система ;
- Заключение, приноси, използвани съкращения и литература (цитирани са 276 литературни източника) ;

Резултати от изследванията са публикувани в 5 научни публикации в реномирани международни списания и представени, също така, в рамките на 6 доклада на международни и национални научни конференции.

2. Оценка на резултатите в дисертационния труд

Докторант Гочева е систематизирала резултатите от проведените изследвания в четири глави, както следва:

- Глава 5: Насочващи лиганди ;
- Глава 6: Мембрана с вграден α -фолатен рецептор ;
- Глава 7: Лекарство-преносни системи ;
- Глава 8: Насочване на лекарствен товар :

В глава 5 е изследвана структурата на избрана серия от лиганди на FR- α във физиологичен разтвор като FA, MTHF, PTX, RTX. С помощта на *ab-initio* и класически методи е изследвана конформационната им стабилност и позиционна изомерия.

В глава 6, при симулациите на моделната система мембрана/рецептор, е проверено влиянието на три метода за скалиране на налягането в изобарно-изотермичен ансамбъл – изотропно, полу-изотропно и полу-изотропно с постоянно повърхностно напрежение. Дискутирани са някои ключови свойства на липидния бислой като структурата му е характеризирана чрез профилите на масова плътност нормално на повърхността на мембраната, площта на липид и деутериевите параметри на порядък на липидните опашки. След това е разгледано по-детайлно поведението на FR- α включително и неговата вторична структура. От проведените изследвания в тази глава е направен извода, че в ансамбъла

с полу-изотропно скалиране на налягането и постоянно ненулево повърхностно напрежение свойствата на системата са най-близки до експериментално наблюдаваните. Поради тази причина NРyT е избран за изследване на процеса на насочване на лекарство-преносните системи към α -фолатния рецептор.

В глава 7 са изследвани лекарство-преносни системи съставени от лекарство-свързващ пептид лиганд на FR- α и 4 молекули доксорубицин. Основна цел на проведените МД симулации в тази глава е да се уравният структурите във физиологичен разтвор и да се даде предварителна оценка за поведението на молекулите след включването им в комплексите на лекарство-преносни системи и да се използват за начални структури при изследване на свързването им към FR- α .

В глава 8 чрез МД симулации е изследвано поведението на конструираните лекарство-преносни системи в Глава 7 в присъствие на вградения в мембрана α -фолатен рецептор. Проследено е приближаването на конюгатите към протеина, като е направена връзка между взаимодействието и реорганизацията в рамките на всеки от тях. Отделно е изследвано и поведението на доксорубицин по време на симулациите. Установено е , че за разлика от стабилността на лекарство-доставящите комплекси във физиологичен разтвор, в близост до рецептора и мембраната лекарствените молекули показват явна склонност да се десорбират от повърхността на пептида. В рамките на тази глава са направени изводи за поведението на доксорубицин след включването му в състава на лекарство-преносните системи: (i) потвърждава се способността му да участва в π -стекинг взаимодействия с други спрегнати системи, но и да образува собствени агрегати; (ii) DOX не проявява

афинитет към α -фолатния рецептор, но е толерантен към всички насочващи лиганди; (iii) част от молекулите на DOX предпочитат да се отделят от комплексите и да се насочат към независимо преминаване през мембраната.

Приносите изложени в дисертацията на докторант Гочева имат определено както **научно-приложен** така и **фундаментален** характер. Като научно-приложени считам приносите свързани с познанието получено на молекулно ниво, които дават насоки за по-ефективно конструиране на лекарство-преносни системи базирани на фолиева киселина. Приносите с фундаментален характер са свързани с конструиране на нов атомистичен модел на мембрана на ракова клетка с по-разнообразен липиден състав в сравнение с публикуваните досега в литературата модели. Освен това са проведени първите МД симулации на α -фолатен рецептор в мембранно обкръжение и е описано поведението на моделната мембрана и вградения в нея α -фолатен рецептор по време на симулации с различни подходи за поддържане на постоянно налягане, т.е. в различни експериментални лабораторни или физиологични постановки.

3. Оценка на публикациите по дисертационния труд

В документите, представени от дисертанта, прави впечатление високата публикационна активност за един докторант. Представени са 5 публикации, свързани с дисертационния труд както следва:

1. A look at receptor-ligand pairs for active-targeting drug delivery from crystallographic and molecular dynamics perspective

Gergana Gocheva, Anela Ivanova

Molecular Pharmaceutics 2019, 16, 3293-3321

DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b00250

2. Tautomerism in folic acid: combined molecular modelling and NMR study

Gergana Gocheva, Nikolay Petkov, Andrea Garcia Luri, Stoyan Iliev, Nikoleta

Ivanova, Jasmina Petrova, Yavor Mitrev, Galia Madjarova, Anela Ivanova

Journal of Molecular Liquids 2019, 292, 111392

DOI: 10.1016/j.molliq.2019.111392

3. Molecular simulation of the structure of folate and antifolates at physiological conditions

Jasmina Petrova, **Gergana Gocheva**, Nikoleta Ivanova, Stoyan Iliev, Boyana

Atanasova, Galia Madjarova, Anela Ivanova

Journal of Molecular Graphics and Modelling 2019, 87, 172-184

DOI: 10.1016/j.jmgm.2018.11.018

4. Self-assembly of doxorubicin and a drug-binding peptide studied by molecular dynamics

Gergana Gocheva, Kalina Peneva, Anela Ivanova

Chemical Physics 2019, 525, 110380

DOI: 10.1016/j.chemphys.2019.05.007

5. Characteristics of a folate receptor- α GPI-anchored into a multilipid bilayer obtained from atomistic molecular dynamics simulations

Gergana Gocheva, Nikoleta Ivanova, Stoyan Iliev, Jasmina Petrova, Galia

Madjarova, Anela Ivanova

Journal of Chemical Theory and Computation, приета за печат; Manuscript ID: ct-2019-008727

4. Оценка на автореферата

Авторефератът представя коректно основните приноси на дисертационния труд и следователно може да се приеме като съответстващ на дискутираното в рамките на представените резултати от докторант Гергана Гочева в дисертацията.

5. Критични забележки и препоръки

Като цяло дисертационният труд е написан ясно и точно. Наблюдават се обаче и някои неточности в изказа. Една част от тях са породени от превода на терминологията от английски език. Действително понякога Е много трудно да се намери подходящият превод на терминологията от английски език и предполагам от там произлиза и смесената употреба на термини на английски и български език .

Примери:

Link модул (стр. 27 и 28),

“Използваният алгоритъм е *steepest descent*... “ (стр.79) , което съществува като терминология в българския език и се нарича метод на най-стръмното спускане.

отрицателен *нетен* заряд (стр. 51) и др.

“Може да се изкаже предположението, че лигандът е *ситуиран* в дадена област до рецептора и се движи, без да променя *локацията* си.” (150 стр.)

Направените забележки не променят стойността и общото отлично впечатление от резултатите, представени в дисертацията.

Към дисертанта имам следните въпроси:

1) Определянето на атомните заряди за една молекулна система има огромно влияние при изчисляване на електростатичните взаимодействия в рамките на дадено силово поле. При конформационното търсене при лигандите проведено с AMBER силово поле е отчетено явно влиянието на разтворителя, докато при провеждане на геометрична оптимизация с DFT, влиянието на разтворителя е отчетено само като континиум. Наблюдава ли се съществена промяна в конформациите на отделните лиганди след геометрична оптимизация в континиумен модел, поради пренебрегване на множество лиганд / разтворител взаимодействия от типа на ВВ т.е. най-стабилния конформер получен с явно отчитане на средата и в континиум от средата един и същ ли е? Това е необходимо при мултиконформационното усредняване базирано на болцмановите тегла спрямо най-стабилният конформер.

2) Защо е използван стек от точно 4 молекули доксорубицин? Това характерно ли е за него или той може да образува и по-големи/по-малки агрегати стабилизирани от нековалентни взаимодействия?

6. Заключение

Дисертационният труд съдържа достатъчно по обем научни резултати, които представляват оригинален научен принос и отговарят, дори надхвърлят неколkokратно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за

прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на Софийски университет „Св. Кл. Охридски“.

Дисертационният труд показва, че докторант Гургана Гочева притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научната специалност теоретична химия, демонстрира умения за самостоятелно провеждане на компютърни експерименти. Личните ми впечатления от докторанта, още като студент в специалност “Инженерна химия и съвременни материали” са отлични.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за постигнатите резултати, представени в дисертационния труд и автореферата, и предлагам на почитаемото научно жури **да присъди образователната и научна степен ‘доктор’ на докторант Гургана Пламенова Гочева** в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.2 Химически науки, специалност “Теоретична химия- Квантова химия”

София, 16.12.2019 г.

доц. д-р Петко Петков