

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на тема
„ИЗСЛЕДВАНЕ НА ВЪЗМОЖНОСТИТЕ ЗА
СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНО „КЛИК“ РАДИОМАРКИРАНЕ С ^{18}F -ФЛУОРДЕЗОКСИГЛЮКОЗА“
за присъждане на образователната и научната степен "**доктор**",
професионално направление 4.2 Химически науки (Радиохимия)

докторант: Гергана Венцеславова Симеонова
научен ръководител: доц. г-р Валентина Любомирова
научен консултант: доц. г-р Боян Тодоров
рецензент: проф. гн Ивайла Панчева-Кагрева

Описание на процедурата

Гергана Симеонова е зачислена за заочен докторант по професионално направление 4.2. Химически науки, докторска програма „Радиохимия“ към катедра „Аналитична химия“ със заповег № РД 20-114/22.01.2020 г. на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“. Отчислена е с право на защита, считано от 22.01.2024 г. (заповег № РД 20-449/26.02.2024 г. Докторантът е положил всички изпити съгласно индивидуалния му учебен план, а представените материали по процедурата за присъждане на ОНС „доктор“ отговарят на изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото прилагане и Условията и реда за придобиване на НС и заемане на АД в СУ „Св. Климент Охридски“.

Биографични данни

Гергана Симеонова се дипломира като бакалавър по специалност „Химия“ в СУ „Св. Климент Охридски“, ФХФ, през 2009 г. След това продължава образованието си в Университет Комлутенсе (Мадриг, Испания) в магистърска програма „Медицински изследвания“ (2010-2012 г.). През периода 2005-2012 г., паралелно с образованието си, работи в разнообразни сектори като химия, горива и минно дело, образование, здравеопазване (в България и Испания). От 2013 г. досега е действащ химик в УМБАЛ „Света Марина“ – Варна с основна сфера на дейност „производство и качествен контрол на радиофармацевтици“. В периода 2020-2024 г. е заочен докторант към катедра „Аналитична химия“ при ФХФ, СУ „Св. Кл. Охридски“, специалност „Радиохимия“.

Цел на дисертацията и актуалност на тематиката

Дисертационният труд е посветен на изследване на възможността [^{18}F]FDG да се използва като простетична група за индиректно стереоселективно радиомаркиране на макромолекули, и по-конкретно – модифицирани тетразини (Tz), които впоследствие да участват в биоортогонални („click“) реакции с тетрациклоктен (TCO), носител на биологично активни вещества. Заложена е идея целта предварително насочване на специфична биомолекула в организма с последващо маркиране директно в *in vivo* условия. Задачите, поставени в настоящата работа, са свързани с разработването на методики, чрез които да се постигне оксимно или хидразоново модифициране на аминокси- или хидразин-функционализирани тетразини и/или TCO. Предвид относително краткия период на полуразпад на ^{18}F , реакциите трябва да бъдат прости за реализиране, да включват минимален брой етапи, да са ефективни, бързи и да се получава краен продукт при умерено високи температури. Тематиката е изключително актуална от гледна точка на развитието на персонализираната медицина, свързана с ранната и точната диагностика на раковите заболявания, и прецизирането на терапията.

Преглед и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на български език и съдържа 135 страници, в които са включени 64 фигури, 15 таблици и са цитирани 143 литературни източника. Авторефератът е представен на 50 страници, като коректно и пълно отразява основните резултати и приноси на дисертационния труд. Работата е структурирана в следните раздели: увод (2 стр.), литературен обзор (64 стр.), цели и задачи (1 стр.), експериментална част (19 стр.), резултати и обсъждане (31 стр.), изводи и научни приноси (2 стр.), библиографско описание на цитираните литературни източници (12 стр.) и приложения (3 стр.).

Литературният обзор е изключително подробен и разкрива загълбочените познания на докторанта в областта на позитронната емисионната томография (PET-CT), механизмите за радиомаркиране и биоортогоналните реакции. Специално внимание е обърнато на свойствата на ^{18}F като позитронен излъчвател и условията за неговото получаване с висок добив и нисък разход на [^{18}O]H₂O. Разгледани са предимствата и недостатъците на директното и индиректното маркиране с ^{18}F и е направен извод, че включването му в простетична група е най-подходящият подход,

т. к. изисква „меки“ реакционни условия и осигурява висока специфична активност на белязания продукт. Като прекурсор е избрана FDG, която маркирана с ^{18}F , сама по себе си е универсален, но неспецифичен маркер за редица заболявания, и поради тази причина се целі свързването ѝ към подходящ химиотерапевтик. Логично, следващите два раздела от литературния обзор представят свойствата на $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$, нейното приложение, методите за получаване и контрол на качеството, както и възможността за формиране на оксими / хидразони чрез индиректно радиомаркиране с протетичната група. В последната част са представени характеристиките и особеностите на биоортогоналните реакции и тяхното приложение конкретно към функционализирани тетразини и гуенофили, като значително внимание е отделено и на методите, прилагани за качествен контрол на продуктите. Разгледани са възможностите за автоматизация на синтетичните процедури, скоростта на химичните реакции и влиянието на факторите, от които зависят, условията за получаване на оксими и хидразони и конкретното приложение на $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ за тяхното маркиране. Заключениета са изведени стегнато и точно; на тяхна база са изведени и целите / задачите на настоящия дисертационен труд.

В раздела „Експериментална част“ са представени детайли относно използваните апаратура и консумативи. Подробно са разгледани производственият цикъл на $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ и етапите за качествен контрол. Описан е начинът на получаване на функционализирани тетразини и циклооктен, и са представени различните експериментални процедури, приложени за тяхното радиомаркиране с $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$. В хода на изследването са проведени над 200 реакции с цел оптимизиране на условията за получаване на белязаните продукти – оценени са ефектите на температурата, рН на средата, реакционното време, вид и концентрация на използваните катализатори и буферни системи, отношението между реагентите и начинът на смесване (едновременно, последователно), повлияването на добива на крайните продукти от наличието / отсъствието на нерадиоактивна глюкоза. Основен прицелен тетразин в този тип изследвания е Tz1, оптимизираната процедура впоследствие е приложена към останалите тетразини и TCO.

Разделът „Резултати и дискусия“ съдържа основните характеристики на изходните катализатори и тетразини, определени с TLC/HPLC. Поради факта, че в експериментите е установено, че добавянето на тетразин трябва да се извърши на по-късен етап от реакционната схема, е изследвано първо взаимодействието на $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ със съответните катализатори. Установено е получаването на междинен

реакционен продукт, който ефективно реагира с аминокси- или хигразиновите Tz го желаните маркирани оксими или хигразони и обяснява необходимостта реагентите да се смесват в определен ред, а не едновременно. При тетразините R2/R3 са изолирани по два продукта, отнесени към моно- и ди-белязани продукти. За целите на анализа е доказано, че плаките на основата на SiO₂ са по-подходящи за проследяване на хога на реакциите от тези с Al₂O₃. Извършената голяма по обем експериментална работа позволява създаването на методика за радиомаркиране на различните тетразини при следните оптимални условия: температура – 70-75 °C; рН – 3.8-4.2; катализатори К2 (p-метоксианилин) или К3 (p-гуаминобензен) в концентрационния интервал 0,3-0,5 M; реакционно време – до 10 min.

Тези оптимални реакционни параметри са приложени и към маркирането на аминокси-ТСО, но не водят до получаването на желания продукт. Изследванията потвърждават някои известни данни, че ТСО се прилага основно като носител на активната биомолекула, а не на радиомаркера. В тази връзка, обаче, е оценено „студеното“ взаимодействие между функционализираните тетразини и ТСО за определяне на скоростната константа на реакциите, които протичат в рамките на секундната времева скала и са напълно приложими за реализиране на стратегията за радиомаркиране с предварително насочване.

Изводи и научни приноси

Напълно подкрепям представените в дисертационния труд изводи относно получените резултати. В допълнение на безспорното изследване, проведено лично от Гергана Симеонова за радиомаркиране на аминокси- и хигразин-съдържащи тетразини с [¹⁸F]FDG, много сериозен е и приносът ѝ в разработването на синтетичната процедура, която може да се приложи в клинична обстановка, при „меки“ условия и за сравнително кратко реакционно време предвид „живота“ на ¹⁸F. За първи път в България са използвани биоортогонални реакции на конюгация, изцяло адаптирани към стандартните клинични условия, за което докторантът е допринесъл значително със своето участие. По мое мнение, приносите в дисертационния труд могат да се тълкуват преди всичко като приложни предвид представената (и „работеща“) оптимизирана методика за маркиране на функционализираните тетразини. Разработката съдържа и фундаментален принос по отношение изследване на свойствата на редица съединения (катализатори и

прицелни молекули) и възможността те да участват в строго специфични химични взаимодействия.

Изложението предизвиква някои въпроси у мен, които не омаловажават постигнатите резултати – по-скоро са резултат от любопитство спрямо някои детайли в изпълнението на заложените задачи:

1. На какъв принцип е подбрано използването на конкретните тетразинови производни в настоящото изследване и има ли сред тях търговски продукти?

2. Прилагайки стратегията за радиомаркиране с предварително насочване, съществува ли възможност белязаните тетразини да "срещнат" в организма групи биомолекули, подходящи за биоортогонални реакции? Ако - да, как би се преодолял този проблем с цел точното им взаимодействие с ТСО-биомолекулния комплекс?

Наукометрични показатели

По темата на дисертацията Гергана Симеонова е съавтор на 3 публикации, в които е първи автор. Една от статиите е в списание от втори квартал (20 т.) и една в издание от четвърти (12 т.). Третият труд е публикуван като пълнотекстово съобщение в сборник от конференции с ISSN. Според ЗРАСБ, Правилника за неговото прилагане и допълнителните критерии на ФХФ трудовете на Г. Симеонова отговарят на съответните изисквания (32 т.). В допълнение, текущи резултати са представени на общо 9 научни форуми, на два от които презентациите са получили първа и втора награда в секция „докторанти“. Маг. Симеонова е член на колектива и в научноизследователски проект, финансиран от ФНИ.

Заключителни бележки

Идеята, заложена в дисертационния труд на маг. Гергана Симеонова, е иновативна, и разкрива потенциала на широко използваната [¹⁸F]FDG за модифициране с цел повишение на специфичността и селективността ѝ като радиомаркер при свързване с подходящи макромолекули.

Образователната и научната цели за придобиване на ОНС „доктор“ са постигнати – основание за това заключение ми дават както детайлният литературен обзор, така и проведенният голям набор от специфични експерименти с личното участие на докторанта. Впечатлението ми от представените материали е отлично и смятам, че придобитите знания, умения и компетенции от докторанта ще създадат предпоставки за още по-значими постижения в областта на

радиофармацевтичните изследвания. Искрено ѝ пожелавам успех в това преизвикателно направление.

Големият обем на извършените изследвания, познанията и опитът на дисертанта в използването на различни експериментални методи и подходи, както и качеството на основните изводи и публикациите в утвърдени научни издания, ми дават пълно основание да приема, че представеният дисертационен отговаря на критериите според действащата нормативна уредба.

Убедено препоръчам на уважаемите членове на научното жури да присъдят на маг. Гергана Венцеславова Симеонова образователната и научната степен „доктор” в професионално направление 4.2 Химически науки (Радиохимия).

София

29.05.2024 г.

проф. Ивайла Панчева-Кагрева, гн

рецензент

Факултет по химия и фармация, Софийски Университет „Св. Климент Охридски“