

КРАТКО ОПИСАНИЕ НА НАЙ-ВАЖНИТЕ ПРИНОСИ

на чл.-кор. проф. дбн Илза К. Пъжева от ИБФБМИ-БАН
във връзка с участието ѝ в конкурса за избор на академици на БАН - 2024 г.

Приносите се отнасят основно до моделни изследвания на връзката структура-активност/ефект на малки биологически активни молекули и връзката структура-функция на биомакромолекули с компютърно-подпомогнати (*in silico*) методи (лиганд-и структура-базирани методи и молекулна динамика), както и с комбинирани *in silico-in vitro* подходи. Включени са и експериментални изследвания на лекарствено-мембранни взаимодействия с диференциална сканираща калориметрия (DSC) и ядрено-магнитен резонанс (ЯМР). Формулираните по-долу приноси отразяват най-съществената част от изследванията на кандидата.

1. Научни приноси от изследвания върху модулатори и транспортни протеини, свързани с множествената лекарствена резистентност (*multidrug resistance, MDR*) в туморни клетки (отразени в 38 публикации):

Главни обекти на изследване са П-гликопротеина (P-glycoprotein, P-gp) – трансмембранен транспортен протеин с основна роля за множествена лекарствена резистентност (MDR) в туморните клетки, както и върху негови лиганди (субстрати и инхибитори) - модулатори на MDR. Изследвани са също и лиганди на протеина на множествената лекарствена резистентност (MRP1) и протеина на резистентност при рак на гърдата (BCRP). **Приносите са:**

1.1. Разработени са **първите, описани в литературата, 3D (тримерни) модели на модулатори на MDR** от различни химически класове, с които е показано, че различията в активността на модулаторите се отнасят основно до различия в молекулните им полета. Моделите са с висока предсказваща способност и са използвани за оценка на MDR-преодоляващата активност на нови структури, както и за селекция на структури за експериментално тестиране.

1.2. За първи път е показана значимата роля на **хидрофобните молекулни полета за активността на MDR модулаторите** и е предложена концепцията “хидрофобен дипол” като характеристика на пространствената насоченост и разпределение на хидрофобността на лекарствените съединения. Показано е, че широко прилаганият във фармакологичните изследвания коефициент на разпределение в системата “вода-октанол” (logP) не описва добре липофилните свойства на лекарствата, ако те зависят нелинейно от приносите на заместителите в структурите на съединенията.

1.3. Обяснена е **широката субстратна специфичност на P-gp** чрез обобщен фармакофорен модел на съединения, взаимодействащи с протеина. **Моделът се използва от фирми**, които разработват проблемно-ориентиран софтуер за молекулно моделиране. Компанията Accelrys, Cambridge-UK, например, използва модела за проверка на приложимостта на разработвания от фирмата софтуер за фармакофорно моделиране.

1.4. Предложен е **механизъм за комуникацията между трансмембранните и нуклеотид-свързващите домени на човешкия P-gp** чрез негови оригинални 3D

молекулни модели в различни функционални състояния (**едни от първите такива модели**). Установени са важни контакти между аминокиселини и са предложени аминокиселини за по-нататъшни насочени мутагенни експерименти. **Идентифицирани са ключови места на свързване на субстрати и инхибитори на P-гр**, които обясняват експериментални наблюдения на взаимодействие между тях.

1.5. Изведени са зависимости структура-активност на 3-то поколение MDR модулатори (лекарства и новоинтезирани, в т.ч. производни на тарикидар и елакридар - едни от най-мощните в момента MDR модулатори) с извеждане на оригинални QSAR и 3D QSAR модели (QSAR, quantitative structure-activity relationships), които са потвърдени с *in vitro* тестове. **Към тези модели е проявен интерес от фармацевтични фирми**, които разработват MDR модулатори, например, Xenova Group Ltd., MedKoo Biosciences, Chapel Hill, NC, USA и др.

1.6. За първи път е приложен комбиниран подход (фармакофорно моделиране, докинг в хомоложен модел на човешки P-гр и диференциращ 3D QSAR анализ) за изследване на **MDR модулатори с дуален инхибиращ ефект** спрямо P-гр и MRP1.

1.7. Обяснени са разликите на молекулно ниво в ефектите на оригинално синтезирани MDR модулатори чрез провеждане на едни от първите докинг-симулации върху експериментално получена структура на човешки P-гр.

Приносите подпомагат изясняването на връзката структура–функция на P-гр и имат важна роля за оценка на способността на лекарствено-подобни съединения да взаимодействат с него. Те са от съществено значение за разработването на високо специфични и ефективни модулатори при лекарственото лечение на рака.

2. Научни приноси от изследвания върху мембранни взаимодействия на MDR модулатори (посредством DSC и ЯМР) (отразени в 9 публикации):

Експериментално е **установено, че липидният мембранен двуслой може да проявява стереоспецифичност във взаимодействията си с катамфифилни лекарствени съединения**. Показано е, че *in vitro* MDR модулиращата активност на базични липофилни съединения корелира значимо с тяхната способност да взаимодействат с изкуствени мембрани, изградени от неутрални и отрицателно-заредени фосфолипиди като тези взаимодействия са сравнени с взаимодействия на противотуморни лекарства и лекарства от 1-во поколение MDR модулатори. **Предложен е механизъм за начина, по който взаимодействията на катамфифилни лекарствени съединения с мембранните фосфолипиди могат да модулират MDR в туморни клетки.**

3. Научни приноси от изследвания върху човешки нуклеарни рецептори и техни лиганди (отразени в 12 публикации):

Изследванията са фокусирани върху човешкия естрогенов рецептор алфа (ER α) и пероксизомния пролифератор–активиран рецептор гама (PPAR γ). **Приносите са:**

3.1. Идентифициран е нов съществен признак с хидрофобен/ароматен характер, допълващ известните до момента фармакофорни признаци на

агонистите на ER α . С молекулно-динамични симулации е показано, че този признак има стабилизираща роля за свързването на лиганда с рецептора.

3.2. **Обяснена е разликата в начина на взаимодействие** на основни компоненти на силимарина (**силибин А и силибин В**) с ER α по отношение на потенциални токсични ефекти. Установените начини на взаимодействие обясняват на молекулно и атомно ниво експериментално наблюдавани разлики в токсичните отнасяния на съединенията.

3.3. Изяснен е начинът на свързване на антагонисти с PPAR γ с като посредством молекулно-динамични симулации е **показано, че PPAR γ антагонистите могат да проявяват множество различни начини на свързване с различна вероятност за случване**. Построен е фармакофорен модел на агонисти на PPAR γ , позволяващ провеждане на ефективен виртуален скрининг на съединения с потенциално хепатотоксично действие, осъществявано посредством дисрегулация на PPAR γ .

Приносите подпомагат разбирането за начините на действие на рецепторите и взаимодействията им с техни лиганди.

4. Научни приноси от изследвания върху природни съединения и техни биологични мишене в човешкия организъм (отразени в 13 публикации):

4.1. Изведени са оригинални 3D QSAR модели на съществуващи и новосинтезирани флаваноиди със структурно-различен скелетон и с инхибиторно действие спрямо протеина на резистентност при рак на гърдата (BCRP). Моделите позволяват **оценка на ролята на заместителите в структурите на изследваните флавоноиди като най-съществени за инхибиторния им ефект** върху транспортната активност на BCRP при лекарствена терапия на резистентни тумори.

4.2. Предложени и доказани са **нови неидентифицирани до момента целеви протеини на природни съединения от класа на флавонолигнаните и хидроксиантрахиноните**, с потенциал на водещи структури за разработване на противотуморни и антибактериални лекарства посредством комбиниран *in silico-in vitro* подход.

4.3. Изведени са оригинални класически и тримерни **QSAR модели за оценка на антирадикален капацитет** на моно- и полифенолни съединения в стехиометрични тестове с **нов подход, базиран на класификация на ОН-групи като реактивни или нереактивни**, като е тествана класификация на съединенията с тях. Получените класификационно-регресионни модели са с висока предсказваща способност.

4.4. Изведени са **оригинални модели** на взаимодействия на природни вещества от групата на сапонините с PPAR γ за **оценка на капацитета им за повлияване на метаболитен синдром**.

4.5. Анализирано е химическото пространство на природни съединения, взаимодействащи със сулфотрансферази; **оценена е ролята на токсичността на разтворителите, използвани най-често в *in vitro* изследванията на природни съединения, с цел подбор на най-подходящия разтворител**.

Приносите подпомагат приоритизацията на молекули от природен произход с потенциал за разработване на лекарствени кандидати, хранителни добавки или като компоненти на нови функционални храни.

5. Други научни и научно-приложни приноси (отразени в 26 публикации):

5.1. Разработен е нов **QSAR модел**, който позволява **надеждно прогнозиране на мембранен пермеабилитет и стомашно-чревната абсорбция на перорално прилагани биоактивни съединения**. Моделът е включен базата данни за алтернативни методи на **Референтната лаборатория на Европейския съюз за алтернативи на опитите с животни**. https://joint-research-centre.ec.europa.eu/laboratories-z/eu-reference-laboratory-alternatives-animal-testings_en.

5.2. **Идентифицирани са нови водещи структури с мултитаргетно действие върху повече от един ензим, въввлечен в невродегенеративни заболявания** и са прогнозирани техни фармакокинетични (ADMET) свойства.

5.3. **Изяснени са механизми на действие на съществуващи и нови лекарства и е подпомогнат насоченият дизайн на нови биологично активни съединения**, сред тях: инхибитори на УДФ-глюкуронозилтрансфераза; инхибитори на цитохром P450; инхибитори на ензима циклооксигеназа; инхибитори на рецептора на епидермалния растежен фактор (EGFR), Braf протеина, субстанции с антитуберкулозно действие; нестероидни противовъзпалителни лекарства, взаимодействащи с поливинилпириolidон; ново производно на противотуморния препарат Doxorubicin. Изведени са и модели на протеини, свързани с регулиране на сърдечната дейност като миозин и ZASP.

5.4. Развит и валидизиран е **софтуер със свободен достъп за пост-докинг оптимизация на протеин-лигандни комплекси**, която позволява прецизиране в изчисляването на свързващите енергии между лигандите и протеините с отчитане на различни нива на флексибилност на протеиновата молекула, както и присъствие на водни молекули и метални йони в местата на взаимодействие. **Платформата има практическа стойност за виртуален скрининг на биологически активни съединения по отношения на всякакви таргетни протеини**. Разработката е на секция „QSAR и молекулно моделиране“ с ръководител проф. Таня Пенчева съвместно с колеги от Университета „Дидро“ и INSERM (Франция) <http://drugmod.rpbs.univ-paris-diderot.fr/ammosHome.php>.

6. Научен принос с методологическа стойност (отразен в 5 публикации):

Изследвани са корелации между оценъчни функции, имплементирани в комерсиален и свободно-достъпен софтуер за целите на структура-базирани изследвания (докинг и виртуален скрининг) на биологически активни молекули с нов метод за изследване на взаимовръзки между критерии (т.нар. интеркритериален анализ, предложен от акад. Красимир Атанасов). Приносът има значение за **рационален подбор на подходящи оценъчни функции при докинг и виртуален скрининг и подпомага оптимизацията на изчисленията**.

Други приноси

- Моделните изследвания на редица биологично активни съединения, синтезирани и тествани от колеги от различни институти и университети у нас и в чужбина (като Институтите по молекулярна биология, по невробиология и по микробиология на БАН, ХТМУ, Фармацевтичен факултет на МУ-София, университети в Германия, Франция, Италия), са допринесли за **развиването на широка мрежа от научни сътрудничества с колективи от различни академични институции у нас и чужбина**, посредством които се осъществява **синергизъм и ефективно комбиниране на моделни и експериментални изследвания**.
- Преобладаващата част от изброените по-горе приноси са получени в резултат от колективния труд на членовете на ръководената от мене секция „**QSAR и молекулно моделиране**“ (до 2023 г.): проф. д-р Иванка Цаковска, проф. д-р Таня Пенчева, гл. ас. д-р Иглика Лесигярска, гл. ас. д-р Мерилин Ал Шариф, д-р Антония Дюкенджиева, Петко Алов и Десислава Жерева. В глава от книга, посветена на 150-тата годишнина на БАН, е публикувана обзорна статия, обобщаващи постиженията и резултатите на секция „**QSAR и молекулно моделиране**“ (Pajeva I., I. Tsakovska, T. Pencheva, P. Alov, M. Al Sharif, I. Lesigiarska, D. Jereva, A. Diukendjieva. In silico studies of biologically active molecules. In: *Research in Computer Science in the Bulgarian Academy of Sciences* (Ed. K. Atanassov), Book series: *Studies in Computational Intelligence* (Ed. J. Kacprzyk), Springer, 2021, 421-451. ISBN 978-3-030-72283-8). **Създаването, развитието и постиженията на секция „QSAR и молекулно моделиране“**, първата такава в БАН и пионерска за страната, считам за **най-голямото си постижение**.

Приложения:

- Публикации на автора по приносите
- Цитирания от други автори в подкрепа на приносите

чл.-кор. проф. дбн И. К. Пъжева.....