

Р Е Ц Е Н З И Я

върху дисертационния труд „Дизайн и синтез на пептиди и гликоконюгати с потенциално приложение в биомедицината и екологията“, представен за получаване на научната степен „доктор на науките“ от доц. д-р Иванка Борисова Стойнева
Рецензент : дхн. инж. Борис Василев Алексиев, професор при катедра „Химия и химични технологии“ на Филиал Разград към Университет „Ангел Кънчев“- Русе

Дисертационният труд на д-р Стойнева е посветен на много актуалната област – химия на пептидите, разработвана особено интензивно през последното десетилетие. Този интерес към пептидите нараства не само поради изключителната им роля при разкриването на интимната същност на процесите в живите клетки, но и благодарение на синтеза на нови и все по- ефективни лекарствени средства на пептидна основа. В това отношение не правят изключение и пептидите със сладък вкус, намерили място и в разглеждания дисертационен труд. Тежестта на проучванията в тази област нарастна в последно време след публикуването на изследванията , симулирани от Европейската Комисия върху аспартама, които показаха пълната му безвредност за човешките и животински обекти в широка гама от концентрации и поемани количества от изучаваните организми. Дисертационният труд обхваща 128 работни, а не стандартни страници, разпределени, както следва : Заглавна страница и съдържание – 3 стр., Увод – 2 стр., Използвани съкращения – 2 стр., Цел и задачи – 1 стр., Литературен обзор - 37 стр., Материали и методи – 1 стр., Резултати и дискусия - 50 стр., Изводи и Приноси – 5 стр., Цитираната литература включва 159 източници и е изложена на 10 стр., Трудове, включени в дисертацията – 3 стр., У частия в конференции – 2 стр., Цитати – 180 броя, изложени на 12 стр.

От посоченото разпределение става ясно, че Литературният обзор съставя около 30 %, а Резултати и дискусия – около 39-40 % от общия обем на труда.

Разделът Цел и задачи е оформен кратко и ясно. Той добре отразява намеренията на докторантката, изложени в Резултати и дискусия.

Литературният обзор показва литературната осведоменост на авторката. По мое мнение това е от съществено значение при кандидатстване за научната степен „доктор“, тъй като при такива случаи става дума за начинаещи изследователи. За опитни колеги, какъвто е случаят с д-р Стойнева, такъв подход не е продуктивен. Освен това предложеният обзор и въведението към него съдържат елементарни, а в някои случаи и непрецизни формулировки. Като пример може да се посочи текстът на стр. 9 : „В зависимост от броя на свързаните аминокиселини те (пептидите !) се разделят на къси пептиди, полипептиди и протеини“. Независимо от стилните граповини тук не са посочени приблизителните граници, в които се движат молекулните маси на тези три категории пептидно-протеинови продукти. Например не е посочено, че на границата между полипептиди и протеини се поставя инсулинът. От друга страна, на стр. 16, ред 12 в изречението „.....“или оксим на (86)“ не се разбира за кое съединение става дума, тъй като по този начин (с цифра в скоби) в труда се отбелязват цитирани трудове, а не конкретни съединения.

В Литературния обзор са намерили място данни за голям брой обекти и методични подробности като се започне от защитни групи, методи за създаване на пептидни връзки (включен е и твърдофазният синтез), разгледани са и някои ензими (например гликозиласпарагиназа), повърхностно – активни вещества, включително и такива произведени от микроорганизми, гликолипиди, липопептиди. Като отчитам конкретните собствени изследвания на авторката, включени в представения труд намирам, че обемът на обзора, както беше вече отбелязано, е прекалено голям и не е достатъчно обосновано включването на съответните раздели в него. Има какво да се желае и по отношение на яснотата на някои от фигурите, номерирането на разделите и подразделите, както и по отстраняването на допуснатите технически (печатни) грешки.

В раздела Материали и методи е написано, че „Описани са само експериментални резултати, които не са публикувани в научната литература“, но липсват каквито и да било сведения.

В раздела Резултати и дискусия д-р Стойнева е изложила проведените изследвания от нея и сътрудниците ѝ. Самостоятелни работи не са посочени, но такива не са задължителни според изискванията на ИОХЦФ – БАН. Позволявам си да препоръчам на кандидатката да обобщи известна част от резултатите си в подходяща обзорна статия, която да публикува в съответно международно списание. Това по мое

мнение е препоръчително поне за резултатите, съобщени на 1-2 страници в сборниците от симпозиумите на Европейското дружество по пептиди.

По – съществените приноси на дисертационния труд се състоят според мен в следното :

Висока оценка заслужават изследванията върху синтетичния подсладител аспартам, които се оформят накрая като двуензимен метод за получаването му.

Проучванията върху скъсените неговے аналози имат теоретично и практическо значение. Особено отбелязване заслужава намереният дипептидметилов естер със сладък вкус. Такива резултати дават информация за фундаменталната връзка структура/биологично действие, имат значение и при изучаване на съответния рецептор.

Сериозно научно значение трябва да се отчете за изследване на антисенс пептидите на аспартама. Тези работи имат значение и за химията на РНК и използване на информацията, добивана при подобни проучвания. Развитието на този въпрос предстои и ще даде възможност за пълната, подробна оценка на получените приноси.

Синтезирани са пролинсъдържащи трипептиди чрез съвременен вариант на Fmoc – стратегия. Биологичната активност на получените продукти позволяват на докторантката да очаква бъдещо значимо приложение на някои от тях в медицината.

Изследванията върху ензима гликозиласпарагиназа в човешкия организъм носят оригинален характер и се отличават със задълбоченост. Сериозните изследвания върху лявата модификация на аспарагина са довели до определянето на поредица от кинетични параметри. Създаден е и специфичен хистохимичен тест за определяне на този ензим в различни органи. Естествено такива разработки се осъществяват най – напред върху опитни животни като мишки, плъхове и др. Установено е още, че този ензим катализира хидролитичното разграждане на бета-аспартилпептиди, което би могло да се използва в бъдеще евентуално в медицината. Ще отбележа като изпълнени на много добро ниво и други проучвания на ензими в дисертационния труд. Пример за това е създаването на метод за хистохимично определяне на дипептилпептидаза на база съответен субстрат.

Друг обект, намерил място в дисертацията са рамно липидите. Изследвани са тънки течни филми от тяхни смеси и са показани различията в поведението на отделните компоненти в сместа. Тези резултати са съществени, защото показват, че независимо от близостта в структурните показатели на отделните съставки, те имат различно индивидуално поведение от тяхната смес. В случая приносът е от категорията структурни показатели/физикохимично поведение. Освен това е установено, че рамнолипиди от микробиален произход (щам *Pseudomonas aeruginosa* BN 10) имат антимикробно действие. Например подтискат развитието на грамположителни бактерии от няколко рода (*Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Bacillus*).

Принос на дисертантката виждам още в изучената деградационна активност на представители от три бактериални щамове (с най-висока активност клетки от *Rhodococcus wratislawiensis* BN 38) върху хидрофилни и хидрофобни ксенобиотици при сравнително широк диапазон от концентрации и времетраене.

Подбрана е подходяща матрица, върху която е осъществена имобилизация на клетки от щам на *Rhodococcus wratislawiensis* BN 38. В съгласие с очакванията имобилизираният продукт е показал добра устойчивост и възможност за продължителна употреба. За съжаление той не е бил внедрен в практиката и само е предложен като кандидат за пречистване на отходни води от различен произход, включително при разлив на нефтопродукти. В този случай би помогнала възможността на ензимните системи на въпросните клетки да катализират разграждането на въглеводороди както с ароматен, така и с алифатен произход.

По отношение на дисертационния труд е редно да се отправят и критични бележки и препоръки :

1 Както беше споменато в рецензията, смущава прекаленият обем на Литературния обзор (бих предпочел характерната за нашия език дума преглед). Освен посочените стилни пропуски бих отбелязал и наличието на елементарни сведения (също споменати вече), които не допринасят за доброто ниво на труда. Като пример ще посоча наличието на елементарни данни за емулгирането на стр. 30. Ще отбележа и наличието на терминологичен пропуск на стр. 24, ред 9 отдолу, където е употребен терминът „нередуцирания край“ вместо правилния нередуциращ край за една въглеводородна верига.

2. Има наличие на немалък брой непоправени печатни грешки. Употребени са на места и неподходящи термини като молекулно тегло (стр. 30, ред 13 отдолу), прекурсор (стр. 26, ред 4, също и на стр. 40), енкрфалини (стр. 97, ред 3), лейцин-енкефалин (стр.47, ред 4 отдолу и на други места).

3. Препоръчително е д-р Стойнева да положи усилия за внедряване на някои от резултатите в практиката.

Проекто-авторефератът отразява съдържанието на дисертацията и след подходящо редактиране (напр. номериране на страниците) може да бъде отпечатан.

З А К Л Ю Ч Е Н И Е

Дисертационният труд на доц. д-р Стойнева съдържа съществени научни и научно – приложни приноси, изложени в рецензията. Една съществена част от тези резултати тя е постигнала в групата на покойния сега проф. дхн. Димитър Петков, чиято докторантка и сътрудница беше. В дисертацията са включени 32 заглавия, 4 от които са отбелязани като авторски свидетелства. Според изискванията на БАН и ИОХЦФ те се приравняват на публикации. Доколкото ми е известно, преди време авторските свидетелства бяха превърнати в български патенти, след съответна преценка. По този въпрос няма сведения в представените документи към дисертационния труд. Две от оставащите работи са отпечатани в наши списания, а 6 от трудовете са намерили място като кратки съобщения в сборниците от симпозиите, организирани от Европейското дружество по пептиди. Представител на нашата страна в тази организация е била и д-р Стойнева. Останалите работи по дисертацията са отпечатани в широко следени международни и чужди списания. Като отчитам всичко това намирам, че дисертацията отговаря на изискванията на ИОХЦФ-БАН.

В момента доц. Стойнова е ръководител на Лаборатория „Химия и биофизика на ензими и белтъци“ към ИОХЦФ – БАН. Не са представени документи, от които да следва, че д-р Стойнева е била научен ръководител на защитили докторанти. В указанията, споменати по-горе няма упоменаване за изисквания по този въпрос.

Въз основа на изложените приноси и направените публикации по темата на дисертационния труд предлагам след успешна защита на доц. д-р Иванка Борисова Стойнева да бъде присъдена научната степен „ДОКТОР НА НАУКИТЕ“.

05.09.2015

Рецензент:

/проф. Б. Алексиев/