

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационния труд „Дизайн и синтез на пептиди и гликоконюгати с потенциално приложение в биомедицината и екологията“, представен за получаване на научна степен „доктор на науките“ от доц. д-р Иванка Борисова Стойнева

Рецензент : проф. д-р, инж. Павлина Долашка - Институт по органична химия с център по фитохимия - БАН

Биографични данни

След дипломирането си през 1978 г., като магистър по химия в Химическия факултет на Софийския университет „Свети Климент Охридски“, Иванка Стойнева постъпва на работа в Института по органична химия с Център по фитохимия – БАН. Десет години по-късно под ръководството на проф. Димитър Петков защитава дисертация и получава научна степен „*кандидат на химическите науки*“. През 1995 г. д-р Иванка Стойнева е избрана за доцент, а сега е ръководител на лаборатория „Химия и биофизика на ензими и белтъци“ в ИОХЦФ-БАН.

Актуалност на тематиката

В този дисертационен труд са представени изследвания върху получаване на биологично активни съединения чрез биоорганичен синтез, предложени са биотехнологични схеми, както и изследвания върху потенциалното им приложение в медицината и екологията.

Тази тема е много актуална, тъй като интересът към биологично активните вещества е много голям и е свързан с положителния им ефект в различни области от живота. Научните изследвания през последните години са фокусирани върху създаването на нови биоматериали и биотехнологии, и приложението им в медицината, биофармацията, биотехнологиите и екологията.

В дисертационния труд на доц. Стойнева са обобщени резултатите от тридесет годишни изследвания върху някои аспекти от биохимията и биофизиката, като изследвания върху различни биологично активни съединения.

Преценка на публикациите и оформянето на дисертационния труд

Дисертационният труд отразява публикуваните резултати за периода 1985 до 2015 в 19 научни списания, като 18 са с импакт фактор, в 8 кратки съобщения от доклади на конференции, 4 авторски свидетелства и една глава озаглавена „Трехалозни биосърфактанти“ в книга „Биосърфактанти – тенденции в изследванията и приложения“.

Доц. Стойнева е автор за кореспонденция на 12 от публикуваните материали, в 2 е на първо място и в 2 авторски свидетелства, като 12 от всичките публикувани материали са в съавторство с проф. Димитър Петков.

Част от резултатите, включени в дисертационния труд са представени на 14 международни конференции и на 8 конференции в България с международно участие. Те са цитирани 180 пъти от други автори в специализирана литература.

Резултатите са изложени ясно и много кратко на 98 страници, 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.. Резултатите са оформени в 3 глави и са илюстрирани с 34 фигури и 7 таблици.

На 10 страници са цитирани 159 литературни източника, сред които почти всички статии на автора.

Разделът „Цел и задачи“ отразява ясно намеренията на докторантката, изложени в Резултати и дискусия.

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.

Приноси на дисертационния труд

Ще отбележа основните, според мен, приноси в дисертационния труд, свързани с изследванията върху пептиди, гликопротеини и биосърфактанти.

В глава 1-ва са представени изследвания върху различни биологично активни **пептиди**, като чрез химични и ензимните методи е представен молекулен и синтезен дизайн.

Чрез ензимен синтез са получени къси пептиди, енкефалинови аналози, като изследванията върху биологичната им активност върху морско свинче доказват опиоидния им ефект.

Също така, след приложен подходящ ензимен подход, а именно диензимен синтез, е получен нов вкус пептид, аспартам. Антисенс дипептиди на аспартама и техните метилови естери са синтезирани след синтезен дизайн, като различният им вкус от другите известни вкусови пептиде е установен от проведения органолептичен тест. Тези нови антисенс пептиди могат да се представят в нов клас вкусови пептиди, които да се влагат в добавки за диабетици и хипертонично болни, вместо вредните натриев хлорид и натриев глутамат.

За синтез на пептиди в органична среда с ниско съдържание на вода е предложен ефективен и стабилен хетерогенен биокатализатор, който може да намери приложение в хранителната индустрия за синтез на вкусови пептиди. Установен е висок добив на Z-аспартам, предшественик на пептидния подсладител аспартам, получен след 5-кратно използване на този катализатор.

Интерес представляват изследванията върху пролин-съдържащи пептиди, които са известни с терапевтичния си ефект. След предложения дизайн е избрана ефективна Fmoc-стратегия при твърдофазния синтез на пролин-съдържащи трипептиди с антихипертензивно действие. Тези трипептиди са много добре характеризирани чрез спектрален и конформационен анализ, а чрез докинг симулации е идентифициран трипептидът с най-високо изразено антихипертензивно действие и два трипептиди, показани като по-добри инхибитори за аминоклонидаза от зеле.

Други интересни обекти, представени в дисертационния труд, са **гликопротеините**.

Във втория раздел са представени ензимната специфичност на гликопротеина гликозиласпарагиназа и приложението на този ензим при хидролиза и синтез на N-гликозидна връзка. Установени са кинетичните характеристики на човешката гликозиласпарагиназа при хидролизата на L-аспарагин, както и

структурните и биохимични свойства на човешка гликозиласпарагиназа и бактериални L-аспарагинази от щамове *E. coli* и *Erwinia chrysanthemi*.

От важно значение са получените резултати, доказващи че високи дози L-аспарагиназа, използвани при лечението на акутна лимфобластна левкемия, може да хидролизат β -аспартил пептидите, присъстващи в човешкото тяло, които причиняват някои от страничните ефекти.

Голям интерес представляват получените резултати, представени в трети раздел - Изследвания върху новоизолирани бактериални щамове - продуценти на **биосърфактанти**.

Изолирани и структурно характеризирани са биосърфактанти от различни щамове, като с голям принос са представените изследвания върху възможностите за приложение на биосърфактанти в екологията и медицината.

Установено е, че само щамът *Pseudomonas aeruginosa* BN10 продуцира смес от моно- и ди-рамнолипиди в отношение на ди/моно - 7.2, като моно-рамнолипидната фракция е с най-силно изразен антибактериален ефект срещу растежа на Грам-положителни бактерии от следните родове: *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Bacillus*.

Като принос на дисертационния труд мога да отбележа и изследванията върху нови биосърфактанти, изолирани гликолипиди от култивирани щамове, които са хомоложни с бактериалните щамове, изолирани от замърсена с въглеродороди почва от различни региони в България. Установена е биологичната активност на някои от получените биосърфактанти, след проследяване на тяхната цитотоксичност и антитуморна активност.

Получени са чрез химичен синтез моделни биосърфактанти, които показват много добро съответствие в повърхностните свойства с познатите биосърфактанти. Това им свойство ги прави подходящи за стабилизатори на емулсии в козметиката и хранителната промишленост.

От получените резултати в раздел „Изводи” са оформени общо 18 извода, като от представените три раздела в дисертационния труд са направени по 6 извода за всеки раздел. Представени са 6 приноси с фундаментален характер и 7 приноси с научно-приложен характер.

Автореферат

Авторефератът е представен на 65 страници и правилно отразява съдържание и приносите на дисертационния труд, като след корекция може да бъде отпечатан.

Забележки

1. Както отбелязах в раздел „Материали и методи” липсва информация за разработени и използвани нови методи. Хубаво би било да се посочат само новите методи, за да стане ясно приносът на доц. Стойнева при използвания набор от методики и експерименти. Това би допринесло за повишаване качеството и стойността на настоящия труд.
2. Представеният на 40 страници литературен обзор е много подробен, за сметка на по-краткото представяне на Резултати и дискусия (43 страници). По-голямо внимание би трябвало да се отдели на обяснението на получените резултати.
3. В раздел „Резултати и дискусия” е представена много добре известна информация. Така например на стр. 52 в раздел I.2.3. Молекулен дизайн и синтез на антисмислови пептиди на аспартама подробно е описано за аминокиселинната последователност на полипептидите и протеините, която се кодира от веригата на смисловата ДНК и т.н. Докато липсва информация за получените резултати.
4. Така например на стр. 82 се съобщава, че „Структурата на пречистените гликолипиди беше определена чрез мас спектрален анализ (външен изпълнител) и комбинация от ^1H , ^{13}C NMR анализи”. Не е представен нито един от тези анализи и не е показан резултатът от тях.
5. На стр. 82 е написано „Проведени бяха и първоначални експериментални изследвания за изясняване на механизма на действие на новите биосърфактанти. Резултатите показват, че тяхното действие е специфично към раковите клетки като предизвикват апоптоза (програмирана клетъчна смърт) и частична ДНК фрагментация.” – Не е описано как са проведени изследванията за установяване на механизма на действие на новите биосърфактанти и представянето на резултатите е много кратко?
6. Имам забележки, свързани с техническото оформяне на дисертационния труд:

- Някои фигури, като фигура 6,8,12,14,22,29 и т.н. са размазани и с много лошо качество.
- Забелязват се правописни грешки и употребени неточни термини.
- Литературните източници в раздел „Литература” са представени по различен начин, не са оформени последователно: автор, година, списание и т.н.
- Също така, не са оформени и представените научни трудове, и участия на конференции.

Заключение

В заключение считам, че дисертационният труд представя научни и научно – приложни резултати в областта на биоорганичната химия. Тази тематика е перспективна и е препоръчително д-р Стойнева да доразвие изследванията заедно с докторанти.

Като отчитам всичко това смятам, че представеният дисертационен труд отговарят на всички изисквания на Закона и Правилника за прилагането на този закон за академичния състав в Република България (ЗРАСРБ). Въз основа на представения дисертационен труд и отбелязаните приноси, както и на представените публикации по темата смятам, че са изпълнени всички специфичните изисквания, определени от Научния съвет на Института по органична химия с Център по фитохимия, приети във връзка със ЗРАСРБ. Ето защо предлагам на доц. д-р Иванка Борисова Стойнева да бъде присъдена научна степен „ДОКТОР НА НАУКИТЕ“.

13.09.2015 г.

проф. Павлина Долашка