

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд на тема: „Твърдофазен пептиден синтез на соматостатинови аналози с очаквано противотуморно действие”, представен от инж. Светлана Цончева Стайкова за присъждане на образователната и научна степен „доктор” по научната специалност 4.2. „Химически науки” от доц. д-р инж. Данчо Любенов Даналев, катедра „Биотехнология”, Химикотехнологичен и металургичен университет - София

Кратки биографични данни

Магистър биотехнолог Светлана Стайкова е родена на 15 октомври 1979 г. в град Хасково. Висшето си образование в ОКС „бакалавър” завършва през 2002 г. в СУ „Св. Климент Охридски”, специалност „Молекулярна биология”, а през 2006 г. придобива ОКС „магистър” в ХТМУ в специалност „Биотехнологии”. След няколкогодишен опит в промишлеността през април 2009 г. Светлана Стайкова е зачислена като редовен докторант към катедра „Органична химия” под съвместното ръководство на проф. д-р Емилия Найденова и проф. дхн Любомир Везенков.

Преглед на дисертационния труд и анализ на резултатите

Представената ми за рецензия дисертация е написана на 98 стандартни страници и включва в допълнение приложение от направени анализи на целевите съединения разположени на 34 страници. Тя е добре структурирана със съответни раздели: Увод - 1стр., Литературен обзор - 34, Цел и задачи - 1, Резултати и дискусия - 25, Експериментална част - 11, Изводи – 2 и Приноси и бъдещи насоки за работа – 1 стр. Цитираната литература обхваща 178 източника, като 2/3 от тях са от преди 2000 година и само 1/3 е след 2000 година. Още тук ще си позволя да отбележа, че лично на мен значителния брой остарели литературни източници, особено свързани с пептидния синтез (в т.ч. номера 102-106, които са от 50-те години на миналия век, когато се е откривал пептидния синтез) не ми прави добро впечатление в една съвременна дисертационна работа, особено когато за същите реакции е налична голям брой съвременна литература. При публикация 75, която е съществена от литературния обзор няма посочена година, от което не става ясно дали цитирания препарат е все още в III

фаза на клинични изследвания или вече е отхвърлен или влязъл в употреба. В позитивен аспект бих искал да отбележа, че литературните източници са изключително нагледно и коректно цитирани, което е от съществено значение за бъдещото използване на съдържанието на дисертационния труд.

Трудът е насочен към синтез на соматостатинови аналози и изцяло отговаря на научната специалност 4.2. „Химически науки”. Бих искал да отбележа с голямо задоволство, че въпреки, че работата е била насочена към синтез на нови съединения с потенциална противотуморна активност, новосинтезираните съединения са изпитани за биологична активност и една съществена част от тях са показали добри антиракови свойства върху използваните клетъчни линии, което прави приложния принос на дисертацията значителен.

Твърдофазния синтез навлезе широко както в лабораторната, така и в полупромишлената практика за синтез на биологично активни съединения, в това число пептиди, олигозахариди, гликопептиди, нуклеотиди и други комплексни молекули. Макар и като цяло твърдофазния пептиден синтез да е една добре проучена територия през последните години, синтеза на цистеин съдържащи пептиди и особено етапа на получаване на дисулфидни мостове върху твърдофазния носител е все още една нова и бурно изследвана територия. В този аспект експлоатирания от докторантката подход за получаване на циклични структури, заедно с наблюдаваните и описани проблеми към конкретните молекули в някои от нейните съединения има съществен принос към този силно актуален проблем.

След сърдечно-съдовите заболявания, туморните образувания са вторите по разпространение в световен мащаб. В България различните видове рак са причина за около 15% от смъртността на населението, като поради липсата на профилактика, противно на световните реалности, у нас тази тенденция нараства с обезпокоителни темпове през последните години. По статистика на Министерството на здравеопазването ежегодно у нас от онкологични заболявания се разболяват средно около 34 000 души. В този глобален контекст направлението избрано от дисертантката и нейните научни ръководители е изключително актуално. Освен това всеизвестен е факта, че съществуващите химиотерапевтици за лечение на туморни заболявания са с относителна ефективност и предизвикват значителен брой странични реакции, което допълнително форсира учените за работа върху откриване на нови препарати за превенция и лечение на рак или ключови модификации върху съществуващи препарати

с цел търсене на селективност и намаляване на нежеланите странични ефекти, какъвто е и случаят по работата в настоящия дисертационен труд.

Разделът **Литературен обзор** е написан на изключително добър научен език и в него ясно личи аналитичния подход на докторантката. По много добър сравнителен подход са разгледани научните изследвания върху структурата и приложението на различни стоматостатинови аналози. Подробно е описан механизма на тяхното действие, както и рецепторите посредством, които те изпълняват разнообразните си функции. Кратко и стегнато са разгледани методите за пептиден синтез, като по-подробно докторантката се е спряла на приложения в дисертацията, за синтез на новите аналози, твърдофазен пептиден синтез. Дискутирани са и някои механизми на реакции във връзка с разработвания проблем от дисертантката по отношение на образуването на дисулфидни мостове в част от новосинтезираните съединения.

Към този раздел бих искал да направя и няколко бележки:

1. Част от използваните съкращения не са изнесени в секцията в началото на дисертацията напр. sstr, GPCR, GTP.

2. Според номенклатурата на IUPAC остатъците получават наставка –ил и в този контекст правилно е да се каже не цистеинов остатък, а цистеинилов, не серинов, а серилов и т.н.

В раздела **Резултати и дискусия** докторантката изключително стегнато е описала извършената от нея работа, като добро впечатление прави големия брой аналитичен материал по отношение чистотата и достоверността на получените съединения, който не оставя никакви съмнения относно практическите резултати от разработения дисертационен труд. Една съществена част от този раздел е отделена на изследванията върху биологичната активност на новосинтезираните съединения и тяхното позитивно влияние при третиране различните видове туморни линии. Същевременно в процеса на изложението на този раздел са описани и изследванията върху антиоксидантната активност на новосинтезираните съединения, като се вижда, че част от тях проявяват съществен ефект. Без да омаловажавам извършената експериментална работа в дисертационния труд и в тази част ще си позволя няколко бележки:

1. На някои места в дисертацията, напр. стр. 64, са използвани еднобуквените съкращения на аминокиселините, макар в началото на дисертационния труд да е отбелязано, че в изложението ще бъдат използвани техните трибуквени съкращения, приети от IUPAC.

2. На стр. 75-79 в данните за новосинтезираните продукти добивите са дадени в грамове, а е видно, че това са %.

Бих искал докторантката да вземе отношение по следните въпроси:

1. Да дискутира същността на термините IC₅₀ и EC₅₀ (стр. 50 от дисертацията), като обясни в какви случаи, кой от термините е удачно да бъде използван.
2. Каква е чистотата на пептидите, на които е правен биологичен скрийнинг

Оценка на съответствието между автореферата и дисертационния труд

Съдържанието на автореферата напълно съвпада с раздела Резултати и дискусия на дисертационния труд и включва още целта и задачите и приносите от него.

Приноси от разработения дисертационен труд

Приносите на дисертационния труд ще резюмирам накратко:

1. От данните представени в **Експерименталната част** става ясно, че са синтезирани 33 нови, неописани в литератуарата съединения, което по мое мнение е един значителен брой и е напълно достатъчно, за да се изведат определени зависимости по отношение структура-активност на определена група съединения. Синтезирани са неописани в литературата скъсени соматостатинови аналози, модифицирани с неприродните аминокиселини Tle, Ac5c, Ac6c, Aib, Dab и Dar в позиции 5 и 6 и са направени изводи относно значението им за биологичната активност.

2. Изследвана е реакцията на образуване на дисулфиден мост върху твърдофазния носител и успешно е реализирано образуването на дисулфиден мост с помощта на Tl(tfa)₃. Чрез новосинтезираната група съединения е доказана значимостта на дисулфидната връзка за проявяване на по-висока биологична активност.

3. Изследвана е *in vitro* антитуморната активност на новосинтезираните аналози на соматостатина върху различни клетъчни линии. При тези изследвания е установена липса на цитотоксичност спрямо нормалните тъканни клетки, което е положително по отношение на евентуално терапевтично приложение.

4. Новосинтезираните пептиди са изследвани по отношени на тяхната антиоксидантна активност като всички те проявяват по-висока такава в сравнение с използваните стандарти - галова киселина и тролокс.

Мнение за публикационната активност на докторантката

Към дисертационния труд са представени 5 публикации по темата на дисертацията. Две от тях са в списания с импакт фактор, едно от които е престижно западно списание в областта на пептидната химия. През последните години новото ръководство на ХТМУ силно стимулира публикуването на работи с участие на студенти и докторанти в Университетското списание на ХТМУ и една от публикациите представени от докторантката е именно в това списание, което напълно съвпада с политиката на нашия университет, където е изработен дисертационния труд, а 2 от работите са в Proceedings от научни конференции една европейска и една национална.

По време на разработването на дисертационния труд докторантката е взела участие в 7 научни форума у нас и в чужбина, като на един от тях представения от докторантката доклад, свързан с разработката на тематиката на дисертацията е получил **Първа награда**. Докторантката е участвала и в работните колективи на 3 научни проекта, разработвани с финансовата подкрепа на фонд „Наука” на ХТМУ.

Представената от докторантката публикационна и научна активност при разработването на дисертационния труд напълно отговаря на изискванията на Раздел II, чл. 11 от Правилника за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ХТМУ.

Лични впечатления от докторантката и заключение

Познавам магистър биотехнолог Светлана Стайкова още от времето, когато беше студентка в магистърския курс на специалност „Биотехнологии”. Тя разработи своята дипломна работа под съвместното ръководство на проф. д-р Любов Йотова и мен, на тематика свързана с пептидната химия, като още тогава се отличаваше като един изключително съвестен млад учен с голям научен потенциал. Направените забележки и отправените въпроси за изясняване, същността на работата и постигнатите от докторантката резултати, в никаква степен не намаляват общото впечатление за прецизно и добросъвестна извършена и интерпретирана експериментална работа, което е доказателство за отличните теоретични познания на дисертантката по научната специалност към която е претенцията за докторката степен, както и в близки и свързани научни области. Дисертационния труд несъмнено съдържа голям брой научни и научно-приложни резултати, които са изключително оригинални.

Имайки предвид, че „доктор” е образователна и научна степен, докторантката Светлана Стайкова напълно е изпълнила целите на обучението в тази степен като е усвоила най-

съвременните техники за синтез, пречистване и анализ на един важен клас биомолекули. Дисертационният труд е изработен под съвместно ръководство на двама научни ръководители, всеки от които утвърден учен в конкретно направление на пептидната химия, което е доказателство че докторантката е получила от своите ръководители широки познания в тази област. Всички тези факти са довели до оформянето на дисертация с високо фундаментално и научно-приложно ниво, което убедено считам, че ще доведе до успешното реализиране на докторантката. В допълнение бих препоръчал на докторантката да продължи своето кариерно израстване, като реализира пост-докторска позиция в престижен западен университет, което несъмнено ще допренесе за формиране на умения у нея за работа в екип и интеграция в интердисциплинарна и международна среда, които по мое мнение са качества от съществено значение за реализацията на трудовия пазар днес.

Във връзка с всичко изложено до тук убедено ще подкрепя присъждането на образователната и научна степен „доктор” на магистър биотехнолог Светлана Цончева Стайкова.

18.03.2013 г.



РЕЦЕНЗЕНТ:

/доц. д-р Д. Даналев/