

СТАНОВИЩЕ

от проф. дхн Любомир Тодоров Везенков

върху дисертационния труд на тема „ **Синтез, охарактеризиране и биологична активност на нови хеморфинови аналози**, редставен за придобиване на образователната и научна степен „доктор” по научна специалност 4.2. Химически науки (Органична химия) от инж. Петя Николаева Пенева

Научен ръководител: Доц. д-р инж. Петър Тодоров

Преглед на дисертационния труд и анализ на резултатите.

Представеният ми за становище дисертационен труд засяга важни проблеми на съвременната наука свързани със синтезата на нови хеморфинови производни с очаквана разнообразна биологична активност. Актуалността на тематиката е във възможността проучването да доведе до разработване на нови терапевтици, които в бъдеще да намерят приложение в медицината. Дисертационният труд включва следните основни раздели: Въведение-2 стр., Литературен обзор- 28 стр., Цел и задачи-2 стр., Резултати и дискусия-58 стр., Експериментална част-26 стр., Изводи-3 стр., Използвана литература- 8 стр., Списък на научните публикации свързани с дисертационния труд 1-стр., Списък на цитирани научни работи-1 стр., Списък на участие в научни конференции и симпозиуми-2 стр., Списък на участия в научни проекти- 1 стр., Дисертационният труд включва още списък с „Използвани съкращения“- 2 стр. и „Съдържание-3 стр. В дисертационния труд са цитирани 177 източника, от които 54 са от последните 10 години. Докторантката е разделила литературния преглед на три основни части. В първия от тях озаглавен „Твърдофазен пептиден синтез”обстойно са разгледани Смолите в твърдофазния пептиден синтез , предназначени за ..получаване на пептиди със свободна С-крайна карбоксилна група и за получаване на С-крайни амиди. Разгледани са и съвременните кондензационни реагенти и основните етапи на твърдофазния пептиден синтез по Fmoc стратегия. Смятам, че би било удачно в тази част да се включат и някои от най използваните защитни групи. Във втория подраздел са разгледани „Аминофосфоновы киселини и техни производни“ като е подчертана разнообразната им биологична активност и прилагането им като противоракови, антивирусни, антибактериални и хербицидни средства. α- Разгледани са накратко и методите за получаване на тези съединения чрез използване като изходни съединения на алдехиди, кетони, или карбоксилни киселини и диестери на Н-фосфоновата киселина, или фосфорен трихлорид. Ръководителят на дисертационния труд Доц. Д-р Петър Тодоров има значителен опит в синтеза на аминокиселини и на синтезата на пептидомиметици с тяхно участие. В третия подраздел „Хеморфини“място са намерили ендогенните хеморфинови пептиди произхождащи от β-веригата на хемоглобина. Хеморфините са естествени пептиди с афинитет към опиоидните рецептори и имат морфиномиметични свойства. Доказано е също, че те имат ефект върху системата ренин-

ангиотензин, върху инхибирането на ангиотензин-конвертиращия ензим и ангиотензиновите AT₄ рецептори. Авторите са разгледали различни аналози на хеморфините, получени чрез изолиране от природни източници или синтезирани предимно по твърдофазния метод. Разгледани са и структурните особености, на които се дължи съответната биологична активност. Литературният обзор е написан на добър научен език. Личи си, че докторанта е проучил обемиста литература в областта на хеморфините, навлязъл е задълбочено в този въпрос и показва добро познаване на проблема. Литературният преглед е онагледен с 10 фигури, 5 таблици и 9 схеми, което спомага за лесното му и по-бързо възприемане. Най-съществените части на дисертационния труд са раздели „Резултати и дискусия” и Експерименталната част. На база разгледаната литература и като имат предвид съвременните изисквания за разработване на пептидомиметици, докторантът и неговия ръководител избират хеморфин-4 (H-Tyr¹-Pro²-Trp³-Thr⁴-NH₂), хеморфин-5, Валорфин (H-Val¹-Val²-Tyr³-Pro⁴-Trp⁵-Thr⁶-Gln⁷-NH₂) и хеморфин-7, (H-Val¹-Val²-Tyr³-Pro⁴-Trp⁵-Thr⁶-Gln⁷-Arg⁸-Phe⁹NH₂), поради тяхната разнообразна биологична активност като основни съединение при синтезите за осъществяване на плануваните изследвания. Това е позволило да се получат редица пептидомиметици чрез заместване на пролиновия остатък в позиция 2 на хеморфин-4 и в позиция 4 на VV-хеморфин-7, с неприродните и пространствено запречени аминокиселини 1-аминоциклопентанкарбоксилна киселина (Ac5c) и 1-аминоциклохексанкарбоксилна киселина (Ac6c) . Други замени включват заместване на Gln в позиция 7 с аминокиселини като диаминопропанова (Dap) и диаминобутанова (Dab) във VV-хеморфин-5 и във VV-хеморфин-7.). Интересни пептидомиметици са на базата на вкарване на адамантанов остатък откъм N-края на пептидната молекула (хеморфин-4) или на модифицирани 5,5'-диметил/дифенил хидантоинови остатъци в хеморфин-4, VVхеморфин-5 и LVV-хеморфин-7. За синтезите е използван твърдофазен пептиден синтез- Fmoc стратегия. Новите съединения са охарактеризирани коректно със съвременни методи: мас-спектроскопия, ЯМР, ИЧ, т.т., тгли на оптично въртене. С цел по-пълното им охарактеризиране са определени техните дисоциационните константи и изоелектричните точки тъй като тези параметри са важни и могат да повлияят биологичната активност на пептидите. Важни са изследванията свързани с определяне на вторичната структура на новите съединения, тъй като тя играе важна роля за преминаването им през клетъчните мембрани и влияе върху някои важни физикохимични показатели, като разтворимост, дисоциационни константи (pK_a) и др. Интересни са и изследванията свързани с молекулното моделиране /докинг/ на новите хеморфинови аналози. Тези проучвания са послужили за определяне на потенциалната активност на новите съединения и са имали потвърдителен характер за това, че модификациите откъм C-края на пептидната молекула играят важна роля при свързването на пептидите с капа-опиоидните рецептори. Получените от докторанта съединения са подложени на биологични изследвания, което е дало възможност да се постигнат интересни резултати с фундаментален характер. Установени са редица структурни особености на които се дължи високата биологична активност. От всички изследвани пептидни аналози включващи 5,5'-диметил/дифенил хидантоинови остатъци, най-активен по отношение на антиконвулсивната им активност е VV-хеморфин-5, съдържащ 5,5'-дифенил хидантоинов остатък откъм N-края на пептидната молекула. От синтезираните аналози на VV-хеморфин-7, най-активен по отношение на антиконвулсивната им активност е пептид 5, в чиято молекула Gln в позиция 7 е заместен с Dab.

Повишаване на тази активност се наблюдава и при заместването на Gln с Orn. При хеморфин-4 е установено, че замяната на Pro в позиция 2 с конформационно запречени аминокиселини, както и въвеждането на адамантановия остатък откъм N-края му могат да провокират антиконвулсивен ефект. При 6 нови аналози на VV-хеморфин-5, съдържащи неприродни и протеиногенни аминокиселини е установено, че най-активния хеморфинов аналог по отношение на антиноцицептивна активност, съдържа Dap в позиция 7. Като анализират получените данни авторите отбелязват значението на позицията на модификацията, естеството на включената аминокиселина и рКа на пептида за настъпването на значителни промени в активността и афинитета на аналозите към рецепторите. Модификацията на двата N-крайни валинови остатъци с аминокиселинен остатък в молекулата на VV-хеморфин-5 води до значителни промени в пептидната активност и афинитет; модифицираните хептапептиди V4p и V5p проявяват най-силно изразена антиноцицепция при остра и възпалителна болка. В „Експерименталната част“ са описани подробно проведените синтези и охарактеризирането на новите съединения.

Извършването на толкова обстойни и разнообразни изследвания в рамките на 1 дисертационен труд са изискали докт. Петя Пенева да се запознае с различни методики. Всичко това се вмести в образователната част на докторантурата. При обсъждането на получените резултати се вижда добрата и теоретична осведоменостТова и помага да поставя ясно целите и да дискутира и обяснява уверено получените резултати с помощта на използваните литературни данни.

Оценка на съответствието между автореферата и дисертационния труд

Авторефератът съответства на дисертационния труд.

Характеристика и оценка на приносите в дисертационния труд.

Формулирани са 5 приноси на дисертационния труд, които точно отразяват получените резултати. Те имат оригинален характер и обогатяват съществуващите знания. Основен принос на дисертационния труд е целенасочения синтез на 30 нови аналози на хеморфините. Друг интересен принос се състои в синтезите на нови аналози на хеморфин-4, VV-хеморфин-5 и VV-хеморфин-7, модифицирани с аминокиселините Ac5c, Ac6c, Aib, Dab, Dap, Lys, Orn, Ile и изследване влиянието на заместителите върху биологичната активност. Съществени приноси са свързани с вкарването за първи път в литературата на аминокиселинен остатък в N—края на VVхеморфин-5 и на C-5 заместени хидантоини в молекулите на хеморфин-4, VV-хеморфин-5 и LVV-хеморфин-7. Значителен приносен характер е установяването на значителна антиконвулсивна и антиноцицептивна активност за част от новосинтезираните пептиди.

Мнение за публикациите на дисертанта по темата на дисертационния труд

Резултатите от проучванията на **Петя Николаева Пенева** са публикувани в 3 научни статии отпечатани в списания с висок импакт-фактор (2,448, 3.063, 3.063) и подходящи за такъв род научни изследвания. Първият научен труд публикуван в Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters е свързан със синтезите и охарактеризирането на ново аналози на VV-Хеморфин-5 и тяхното изследване за ноцицептивна активност. Другите два научни труда са публикувани списание Amino Acids. В първият от тях авторите описват синтезите и охарактеризирането на нова

серия аналози на VV-Хеморфин-5, модифицирани в N края с аминокислотен остатък и тяхното изследване за антиконвулсивна активност. В другият труд авторите описват синтезите на нови аналози на VV-хеморфин-7 съдържащи неприродни аминокиселини. Важно е да се отбележи, че в литературата са забелязани два цитата на нейните публикувани трудове. Докторантката е представила резултатите от изследванията на десет научни конференции и симпозиуми като постерни доклади.

Лични впечатления за дисертанта.

Познавам дисертантката и имам отлично мнение за нея. Впечатлен съм от нейната работоспособност, отговорност и прецизност при разработване на дисертационния труд

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Дисертационният труд на Петя Николаева Пенева е посветен на актуален за науката проблем. Постигнати са значителни научни приноси в областта на разработване на биологично активните съединения. При изпълнението на задачите докторантката показва много добро познаване на литературата по проблема, усвоила е и е приложила важни методи в перспективна научна област. Резултатите от дисертационния труд са оформени в три статии отпечатани в международни списания с висок импакт-фактор (2,448, 3.063, 3.063). Две от статиите са цитирани в международни списания. Участвала е в 6 научни проекта. Към това мога да прибавя и моите добри лични впечатления от Петя Николаева Пенева.

Въз основа на изложеното с убеденост препоръчвам на почитаемите членове на Научното жури да гласуват положително за присъждането на образователната и научна степен „Доктор” на инж. Петя Николаева Пенева.

26.12.2020 г.

гр. София

проф. дхн Л. Везенков