

СТАНОВИЩЕ

от **проф. д-р инж. Емилия Димитрова Найденова** – кат. „Органична химия”
ХТМУ

ОТНОСНО: Дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен „Доктор” от **ас.инж. Рая Николова Райкова** по научна специалност 5.11. Биотехнологии (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества)

ТЕМА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД: „Синтез и кинетични свойства на биологично активни инхибитори на ензимни системи”.

НАУЧНИ РЪКОВОДИТЕЛИ: проф. д-р инж. Любов Йотова и
доц. д-р инж. Данчо Даналев.

Интересът към ензимните инхибитори се обуславя от възможностите, които те предоставят, за изясняване на структурата на отделните ензими, а също така и за определяне на физиологичната им роля. Инхибирането на ензими, които причиняват болестни състояния при хората, превръща ензимните инхибитори в нов клас биологично активни вещества с голям потенциал за приложение в медицината и фармацията.

Като пимери за приложение на инхибиторите, като терапевтици докторантката е посчила използването на метотрексат в химиотерапията за полу-селективно инхибиране синтеза на ДНК в злокачествените клетки, използването на аспирин за инхибиране на синтеза на простагландини, които са частично отговорни за симптомите при артрит, използването на сулфонамидите за инхибиране на синтеза на фолиева киселина, която е от съществено значение за метаболизма и растежа на болестотворни бактерии. Инхибирането на 5-ЛГ(липоксигеназа) води до блокиране на клетъчната пролиферация при рак на простатата и синтетични инхибитори на 5-ЛГ се прилагат за лечение на ракови заболявания при човека.

ЛГ принадлежат към семейството на хетерогенните пероксидазни ензими, които използват молекулен кислород за диоксигениране на липиди и участват в биосинтеза на левкотриени, участващи в процесите на възпаление. Интерес представляват и ензимите от кръвната коагулационна каскада за осъществяване на процеса хомеостаза в организма.

В голямата си част терапията с инхибитори се основава на подтискане активността на ензимите, като изследването на кинетиката на инхибиране е от ключово значение за разработването на фармацевтичните продукти.

Въз основа на казаното считам, че темата на дисертационния труд е дисертабилна, а изследванията свързани с кинетиката на инхибиране на липоксигенази и серинови протеинази с природни и синтетични инхибитори на тези ензимни системи са актуални, переспективни и с практическа насоченост. Усилията към създаване на нови инхибитори с висока специфичност и стабилност за осъществяване на контрол и регулация на сериновите протеинази от кръвната коагулационна каскада и цялостното поддържане на хомеостазата в организма са от голямо значение и с потенциално приложение в медицината.

Дисертационния труд е изложен на 135 страници, включва 81 фигури, 19 таблици. Цитирани са 118 литературни източници, като ми прави впечатление, че половината са доста преди 2000 година (предполагам, че има причина за това). Резултатите са отразени в 4 научни публикации, като две от тях са в научни списания с импакт фактор, а другите две в сборник с редактор от 32 Европейски Пептиден Симпозиум. Отлично впечатление прави активното участие на докторантката в международни и национални научни форуми с доклади и постери. Докторант Райкова е участвала и в 5 национални и международни семинари, които без съмнение са допринесли за обогатяване на нейните знания и развитието ѝ като изследовател. Тя е участник в разработването и изпълнението на 4 научно изследователски проекти и един за „Фундаментално и приложно обучение на докторанти, постдокторанти, специализанти и млади учени в интердисциплинарни биологични направления и иновационни биотехнологии“.

Литературният обзор на докторант Райкова е доста подробен. Той заема 52 стр. и в него детайлно са разгледани липоксигеназите (ЛГ), като част от мултиензимните системи, източниците за изолиране на ЛГ, ролята им в биохимичните процеси на клетката, ензимни реакции катализирани от ЛГ. Представена е структура на ЛГ от соя, субстратната специфичност и др. характеристики, на които няма да се спирам. Подробно са разгледани и инхибиторите на ЛГ, както и възможностите на полиамидоаминови дендримери за имобилизация на ЛГ с цел използването им при конструиране на биосензори.

В по стегнат вид са описани ензимите от каскадата на кръвната коагулация и техните инхибитори.

Въз основа на известното в литературата целта на дисертацията е формулирана ясно и точно, а задачите за реализирането ѝ са подбрани удачно.

Извършена е достатъчна по обем експериментална работа и докторантката е усвоила разнообразни методи и техники. Направените изводи и приносите от извършените изследвания са прекалено подробни и не представят по най-добрия начин постигнатите резултати. Накратко, основните приноси на дисертационния труд според мен са:

- Изолирана, пречистена и охарактеризирана е ЛГ от два различни източника –растителен и микробиален. Определени са всички кинетични константи.

- Използвани са матрици на основата на PAAN и PAMAM за имобилизация на ЛГ, като е установено, че стабилността на имобилизираната ЛГ от соя значително се повишава, което позволява многократна употреба на ензима и стабилност на сигнала при измерванията. Имобилизираната ЛГ от соя върху два различни носителя с дендримерна природа показва висока относителна активност.

- Синтезирани са нови аналози на рибавирин, като потенциални инхибитори на ЛГ, като са установени оптималните експериментални условия.

- Изследвана е кинетиката на инхибиране, изчислени са инхибиторните константи и е определен типът на инхибиране в присъствие на рибавирин, галантамин и 2,3,5 – триацетил – 1 – β – рибофуранозил – тиокарбамид. Установен е смесен тип на инхибиране. Синтетичният аналог на рибавирин дава нови възможности за контрол на ЛГ активност, като участник в мултиензимните системи, формиращи възпалителните процеси в човешкото тяло.

- Изследвана е кинетиката на ензимно катализираните реакции на моделен ензим (трипсин) и ензими от кръвната коагулационна каскада (фактор Ха, тромбин и плазмин) в присъствие на аналози на изоформа 2 и 3 на антистазин. Установено, е че аналозите на изоформа 3 на антистазин, сравнени с тези на изоформа 2, показват по-високи инхибиторни свойства.

- Установен е неконкурентен тип инхибиране от амидните аналози, за разлика от природния антистазин , който е конкурентен инхибитор. Наблюдавана е

селективност на amidните аналози към ензимите от кръвната коагулационна каскада, в сравнение с всички серинови протеинази.

Забележки, препоръки и въпроси.

На някои места в текста се срещат неточности на изказа и технически грешки, които ас.Райкова трябва да отстрани преди отпечатването на автореферата и които трябва да се стреми да не допуска в бъдещата си работа.

Имам следните въпроси: Проведени са изследвания с ЛГ от соя 1 и соя 2. За мен не стана ясно каква е разликата между соя 1 и соя 2 и как тя повлиява получените резултати.

Бихте ли дала малко по-подробни обяснения за данните в таблица 8 (стр.92). Оказва ли влияние концентрацията на инхибитора върху константата на инхибиране?

Авторефератът включва основните резултати от проведените изследвания и напълно отговаря на съдържанието на дисертацията, а темата напълно съответства на научната специалност.

Лични впечатления Познавам докторант Рая Райкова и личните ми впечатления от нея са отлични. Тя се изгради като компетентен и самостоятелен изследовател и съм уверена че ще бъде и много добър преподавател.

Заклучение

В заключение считам, че представеният дисертационен труд напълно отговаря по обем, научно-приложни приноси и публикации в научната литература на изискванията за дисертационен труд и на Правилника на ХТМУ за придобиване на научни степени. Въз основа на изложеното по-горе и като изхождам преди всичко от приносите на дисертационния труд и получените резултати, препоръчвам на членовете на Научното жури да гласуват за присъждане на образователната и научна степен "доктор" по научна специалност 5.11. Биотехнологии (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества) на ас.инж. Рая Николова Райкова

Дата: 22.06.2015

Член на Научното жури:

/Проф.д-р инж. Е.Найденова/