

СТАНОВИЩЕ

За дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен „доктор”

Професионално направление 4.2. Химически науки, докторска програма “Органична химия”

Автор на дисертационния труд: Светлана Цончева Стайкова

Научни ръководители: проф. д-р инж. Емилия Найденова, проф. дхн инж. Любомир Везенков

Тема на дисертационния труд: Твърдофазен пептиден синтез на соматостатинови аналози с очаквано противотуморно действие

Подготвил становището: доц. д-р Иванка Станкова, катедра “Химия”, ПМФ, ЮЗУ „Неофит Рилски”, Благоевград

Светлана Цончева Стайкова е докторант в редовна форма на обучение в катедра „Органична химия”, Химикотехнологичен и металургичен университет – София. Изследователските качества, доброто познаване на разглежданата в дисертацията проблемна област са в основата на постигането на получените научни резултати.

Представеният за рецензия дисертационен труд включва изследователски материал на актуална тема в областта на онкологичните заболявания, които са вторите по разпространение заболявания след сърдечно-съдовите. Научните изследвания в световен мащаб са насочени, както в създаването и изследването на нови противоракови средства така и в търсене на пътища за намаляване токсичността и повишаване на селективността на използваните понастоящем в клиничната практика. Надеждна алтернатива на използваните до сега онкотерапевтици представляват пептидите. Установено е, че редица пептиди, синтезирани на основата на природни компоненти проявяват противотуморна активност. Основното им преимущество пред класическата лекарствена терапия е силно редуцираната токсичност. Наред с това е необходимо те да притежават и висока плазмена устойчивост, както и да се синтезират лесно и с високи добиви.

Хормонът соматостатин ($\text{SST-14 } \text{H}_2\text{N-Ala-Gly-c(Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys)-COOH}$) е природен тетрадекапептид, изпълняващ разнообразни функции в човешкия организъм, като поставената цел в дисертацията е синтез и биологичен скрининг на модифицирани скъсени аналози на Соматостатин. Идеята за получаването им идва от факта, че са синтезирани редица негови скъсени линейни и циклични аналози,

някои от които намират приложение в клиничната практика при третирането и диагностиката на хормон-зависими тумори, както и симптомите свързани с тях (Октреотид, Вапреотид и др.). От споменатото по-горе става ясно, че целта и задачите на дисертацията са в безспорно съвременна, актуална и перспективна област на пептидната химия.

По мое мнение, най-голям интерес представляват следните резултати:

■ **Синтез на циклични октапептидни амидни аналози на Октреотид** (Сандостатин, SMS 201-995: D-Phe-c(Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys)-Thr-ol) е соматостатинов аналог, който намира приложение в клиничната практика при третиране на ендокринни тумори на храносмилателната система, акромегалия и др).

- Аминокиселината Lys, разположена в 5-а позиция е заместена с Orn (орнитин) и с неприродните диаминоалканови киселини Dap (диаминопропанова киселина) и Dab (диаминобутанова киселина).

- Аминокиселината Thr, разположена в 6-а позиция е заместена с пространствено запречената неприродна аминокиселина Tle (трет. левцин).

- Синтезиран е и референтния соматостатинов аналог RC-102 (пептид 5) (D-Phe-c(Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys)-Thr-NH₂), за да сравни неговата *in vitro* противотуморна активност с тази на останалите новосинтезирани аналози.

Изследване на биологичната активност на изброените по-горе циклични аналози показва:

- умерена цитотоксична активност в *in vitro* изследвания върху туморни клетъчни линии (Hep G-2, MDA-MB-231, HT-29, HeLa);

- специфичност на действие и не повлияване на нормалната диплоидна клетъчна линия (Lep 3);

- аналога съдържащ диаминопропанова киселина (D-Phe-c(Cys-Phe-D-Trp-Dap-Tle-Cys)-Thr-NH₂) показва най-висока цитотоксична активност спрямо MDA-MB-231 клетъчна линия с IC₅₀ 0.033 mM.;

- Установено е, че заместването на Thr, разположен в позиция 6 с Tle води до запазване на цитотоксичната активност.

- Изследвана е и антиоксидантната активност на новосинтезираните аналози и е установена антиоксидантна активност значително по-висока спрямо използваните стандарти.

■ **Синтез на ациклични аналози на Октреотид.**

- Разположеният в 6-а позиция Thr е заместен с пространствено запрещените неприродни аминокиселини Tle (трет. левцин), Ac5c (аминоциклопентанова киселина), Ac6c (аминоциклохексанова киселина) и Aib (аминоизобутанова киселина)

■ **Синтез на циклични и ациклични аналози аналози на Вапреотид - RC-160 (D-Phe-c(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys)-Trp-NH₂) и RC-121 (D-Phe-c(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys)-Thr-NH₂)**

- Lys, разположена в 5-а позиция е заместен с Orn (орнитин) и неприродните диаминоалканови киселини Dar (диаминопропанова киселина) и Dab (диаминобутанова киселина).

- Val, разположена в позиция 6 е заместен с Tle (трет. левцин).

Новосинтезираните аналози притежават дисулфиден мост между Cys-2 и Cys-7, тъй като той е от съществено значение за активността. Част от пептидите са в ациклична форма със Acм-защитени сулфхидрилни групи с цел да оценим значението на дисулфидния мост за биологичната активност на пептидите.

- Установено е, че цикличните аналози на Вапреотид при *in vitro* биологични изследвания показват по-ниска цитотоксичност спрямо Hep G-2, MDA-MB-231 и HeLa в сравнение с цикличните аналози на **Октреотид**;

- Най-висока цитотоксична активност показва аналога (D-Phe-c(Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Tle-Cys)-Thr-NH₂) спрямо HeLa с IC₅₀ 0.033 mM.

- Антиоксидантната активност на пептиди **1Т-4Т** е значително по-висока активност в сравнение с използваните стандарти.

■ **Синтез на линейни соматостатинови аналози на BIM 23052. (DC-23-99) D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH₂**

- Thr, разположен в позиция 6 е заместен с конформационно запрещените Tle, Aib, Ac5c и Ac6c с цел да се стабилизира необходимата за активността структура и е синтезиран референтния пептид BIM-23052 (DC-23-99) за да сравни неговата *in vitro* противотуморна активност с тази на останалите аналози;

- Аналози на BIM-23052, включващи към amino края хидрофобната последователност Pro-Phe/D-Phe-Val/D-Val-Tyr-Leu-Ile са синтезирани и е установено, че D-Trp е от съществено значение за биологичната активност на тези аналози - пептидите (Pro-Phe-Val-Tyr-Leu-Ile-D-Trp-Lys-Tle-Thr-NH₂) и (Pro-D-Phe-Val-Tyr-Leu-Ile-D-Trp-Lys-Tle-Thr-NH₂), които включват D-Trp в позиция 7 инхибират в умерена степен клетъчния растеж на HeLa и Hep G-2 туморни клетъчни линии.

Чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc-стратегия са синтезирани и охарактеризирани 5 нови циклични и 5 нови ациклични модифицирани амидни аналози на соматостатиновия аналог Октреотид, 4 нови циклични и 4 нови ациклични соматостатинови аналози на RC-121 и RC-160 (Вапреотид) и 9 нови линейни аналози на линейния соматостатиновия аналог BIM-23052 и е установено значението им за биологичната активност.

Дисертацията е написана последователно и ясно като съдържа оригинални научни изследвания и резултати. Научните резултати имат определена стойност и са постигнати чрез подходящи методи и подходи. Много добро е впечатлението от прецизно проведения експеримент, от коректно описаните процедури за синтез и от подробното спектрално охарактеризиране на съединенията.

Вижда се, че докторантът е усвоил и успешно прилага в работата си съвременни методи за синтез и изследване на пептиди, т. е. изпълнени са и образователните задачи на докторантурата.

Научните резултати са публикувани в пет статии – две в международни списания (*Protein and Peptide Letters, In Peptides, Proceedings of 32th European Peptide Symposium*) и три в български списания – (*Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy, Bulgarian Chemical Communications, Научни трудове на Русенския Университет*). Във всички статии докторантът е първи автор.

Резултатите от дисертационната работа са докладвани на седем научни форуми, един от които е международен, има и изнесен доклад, награден с първа награда за най-добър доклад. Нямам никакво съмнение в съществения принос на докторанта в изпълнението на поставените цели и задачи.

Авторефератът на дисертацията отразява в резюмиран вид съдържанието на дисертацията и е написан в съответствие с утвърдените правила.

Заключение

В заключение считам, че представеният за защита дисертационен труд съответства на изискванията за присъждане на образователната и научна степен “доктор”. Извършената работа е внушителна по обем и разнообразна по характер, което дава основание да се предположи, че докторанта е натрупал достатъчно опит и способности за провеждане на самостоятелна научна работа в областта на твърдофазния пептиден синтез.

Всичко казано по-горе ме мотивира да дам без колебание положителна оценка на дисертационния труд и да подкрепя присъждането на образователната и научна степен „доктор” на докторанта Светлана Цончева Стайкова..

Дата:

18.03.2013 г.

Член на научното жури:

(доц. д-р И. Станкова)