

## РЕЦЕНЗИЯ

От проф.д-р инж. Любов Константинова Йотова – Митова

Определена за член на научно жури със заповед на Ректора на ХТМУ - № АД-20-461/21.11.2012 на дисертационния труд на:

Гл. ас. Инж. Михаил Неделчев Камбуров на тема: *„Пречистване на аprotинин с помощта на афинитетни сорбенти на основата на хитозан и трипсин“*, представен за присъждане на образователна и научна степен „доктор“ по научната специалност 01.05.10 „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“, професионално направление 5.11 „Биотехнологии“

### Анализ на дисертационния труд

Представеният ми за рецензия дисертационен труд е актуален , имайки предвид , че за първи път на национално ниво е създадена патентно чиста технология за получаване на трипсинов инхибитор аprotинин. Той намира приложение в медицинската практика за терапия на заболявания на различни човешки органи.

Дисертацията е представена на 137 страници, като е структурирана по традиционния начин , включващ : литературен обзор, материали и методи, резултати и дискусия, заключение, изводи и приноси.

Литературният обзор е посветен главно на обекта на дисертационния труд, а именно природните инхибитори на протеолитични ензими и тяхното пречистване, имобилизирани ензими и тяхните носители и по конкретна част , свързана с омрежване и активиране на хитозанови гелове. Обхваща цитирани 150 източници, които се разпределят така: общо 23,6 % от източниците са от последните 10 години, а 15.3% в последните 5 години. Седем източника са включени в методичната част, а 8 броя в „Резултати и Дискусия“

Анализът на литературните данни е направен обективно и компетентно, като е конкретизиран върху обектите на дисертационния труд. Онагледен е с подходящи схеми и фигури. Коментирани са чрез сравнителен анализ преимуществата и недостатъците на имобилизираните ензими, както и подробно е дадено приложението на хитозана, като носител за имобилизиране на ензими.

Целите на настоящата дисертация са формулирани ясно, като са конкретизирани в отделни задачи.

Методичната част обхваща 16 страници на които доста подробно са изложени традиционни и оригинални методи свързани с получаването на хитозанови частици и получаването и пречистването на аprotинина, както и влиянието на различни фактори. Използвани са съвременни методи и апаратура.

Към раздел „Материали и методи“ имам и някои забележки:

1. Към някои традиционни методики няма посочена литература, което затруднява оценката на тези разработените от докторанта. Има дадени подробности, които по-скоро се отнасят до дискусията за , а също значението на даден метод и неговите преимущества, като например на стр. 58 по отношение на концепцията на диференциалната спектроскопия.
2. Цитираният литературен източник №29 изобщо не се отнася за определяне на кинетични константи.

Резултатите от изследванията са съсредоточени най-напред върху определяне на молекулната маса на хитозана, което е от съществено значение по нататък за имобилизационната процедура. Изследвана е и степента на деацитилиране на хитозана, като са приложени три съвременни метода, които са коментирани чрез сравнителен анализ и резултатите са от много важно приложно значение. Доказана е и морфологията на получените хитозанови частици чрез ПЕМ, както и подробни спектрални характеристики. По нататък са интерпретирани резултатите в светлината на изказване на възможни механизми, чрез които се осъществява омрежването на хитозана. Тази част считам за



особено важна, която показва възможностите на докторанта да осмисля научно постигнатите резултати.

Подробно са представени резултатите, свързани с каталитичните и кинетичните параметри на имобилизирания трипсин. Изследванията върху зависимостта относителна активност-скорост на разбъркване са много подробно представени и интерпретирани от гледище на ензим-субстратното взаимодействие. Изказано е по-скоро емпирично предположение за влияние на дифузията при две различни скорости на разбъркване. Един по-богат доказателствен материал и чрез изчисления и определяне на количествени стойности на дифузионните константи, определени от първи и втори закон на Фик би било едно убедително доказателство.

Втората част от изследователската работа е посветена на пречистването на апротинин от говежди бял дроб. Подробно са изследвани факторите, които влияят върху стабилността на препарата и са приложени различни хроматографски методи, като йонообменна и гел-хроматография, както и в „бач“ процес на основата на получени афинитетни лиганди, което също считам за оригинален принос на докторанта.

Направен е сравнителен анализ на чистотата на получения от М. Камбуров апротинин по негова оригинална технология с медицински препарат със същото действие на фирмата „NOVO“. Тук претенциите на автора са за преимуществата на технологията, която е защитена с патент.

Дисертационният труд завършва със заключения и изводи. Те отразяват обективно обобщение на резултатите от извършените изследвания и изказани научни предположения и доказателства. Считаю, че дисертационният труд би спечелил, ако заключението беше поднесено във вид на дискусия, като сравнението с резултати на други автори би допринесло оригиналните постижения на докторанта да бъдат ясно и високо оценени.

## **Приноси**

Бих обобщила три основни приноса от научно и практическо значение:

- Получаването и охарактеризирането на хитозанови частици, като носители за получаване на нови биокатализатори .
- Изследването на афинитетни лиганди
- Създаването на технология за получаване на апротинин.

## **Публикации на докторанта**

Резултатите от дисертационния труд са отразени в 4 статии, една от които е в международно списание с импакт фактор. Представен е и един патент.

## **Автореферат**

Авторефератът отразява основните резултати и постижения на дисертационния труд и нямам забележки към него.

## **Въпроси**

Позволявам си да задам следния въпрос:

Как докторантът убедително би защитил преимуществата на омрежването с глутаров алдехид, като метод за имобилизация на биологично активни вещества пред други методи?

## **Лични впечатления**

Познавам гл.ас. инж. М. Камбуров от 29 години. Свидетел съм на неговото израстване като научен работник и педагог . Считаю, че той е с изградени професионални качества.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

От представените документи и дисертационен труд считам, че те отговарят напълно на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника на ХТМУ за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“. В този вид представен дисертационният труд по същество представлява едно завършено научно-приложно изследване представено по убедителен начин и ето защо предлагам на почитаемото Научно жури да присъди на гл. ас.инж. Михаил Неделчев Камбуров образователната и научна степен „Доктор“.

15.01.2013

РЕЦЕНЗЕНТ:



/проф.д-р инж. Любов Йотова/