

СТАНОВИЩЕ

от проф. Любомир Евстатиев Македонски

Катедра Химия на Медицински университет „проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна

Относно: дисертационен труд на тема „Синтез и биологична оценка на пептидни конюгати SMAC-NT с комбинирано антинеопластично и аналгетично действие” на ас. Силвия Георгиева Михайлова за придобиване на образователна и научната степен „доктор”, в професионално направление 4.2 Химически науки, докторска програма по специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества”.

Научни ръководители: доц. Тамара Пайпанова, дх

доц. Калоян Георгиев, дх

Със Заповед № Р-109-292 от 19 септември 2019 на Ректора на Медицински университет „проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна съм определен да участвам в научното жури, а на първото му заседание с протокол № 1/ 30.09.2019г. се взе решение да представя становище относно дисертационния труд на ас. Силвия Георгиева Михайлова за придобиване на образователната и научната степен „доктор” в Професионално направление 4.2 Химически науки, докторска програма по специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества”.

Представеният дисертационен труд е в обем 148 страници, като включва: Въведение, Литературен обзор – 40 страници, Изследователски методи – 10 страници, Синтетични процедури – 20 страници, Обобщение и тълкуване на получените резултати – 32 страници, Изводи, Приноси, Използвана литература и Приложения. Представени са 40 фигури, 17 таблици, 10 схеми и 14 приложения. Цитирани са 177 литературни източника, от които 4 на кирилица и 173 на латиница, като по-голямата част от тях са след 2005 год.

Темата на предложението от докторантката дисертационен труд е актуална, тъй като засяга търсенето на нови биологично-активни вещества с цел приложение в борбата със социално значими заболявания. Експерименталната работа е извършена в секция „Молекулен дизайн и биохимична фармакология”, Институт по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев” - БАН и е продължение на традиционните за тази секция изследвания върху насочения синтез и охарактеризиране на биологично активни съединения с цел създаване на иновативни терапевтични средства.

Целта и задачите са аргументирани коректно с направения литературен обзор, като са формулирани следните направления:

- получаване на нови пептидни конюгати SMAC-NT, като предварително са синтезирани защитени аминокиселини, необходими за вграждането им в целевите пептидни аналози, SMAC-пептидни аналози и NT (8-13) аналози;
- прилагане на подходящи аналитични методи за охарактеризиране на синтезираните пептидни аналози и определяне стабилността на получените съединения, както при различни физиологични условия, така и след съхранение;
- първоначален скрининг за потенциално антинеопластично и аналгетично действие.

В литературния обзор е направен анализ на SMAC-миметиците и тяхното приложение като таргетна терапия на неопластичните заболявания. Нативният невротензин и неговите NT(8-13)-аналози участват в налоксон-независимата антиноцицепция и се очертават като важни модулатори в регулацията на болката. Подробно е разгледана връзката между структурата и действието на молекулите, както и метода за получаване на пептиди. Актуална потребност за лечението на пациенти с онкологични заболявания е създаването на фармакологични средства с двойно действие – апоптотично и аналгетично.

В експерименталната част на дисертацията подробно е описан и аргументиран методът за Твърдофазен пептиден синтез (SPPS). При синтеза на всички пептидни аналози е използван стандартен Fmoc^t/Bu SPPS върху 2-хлоротритил хлоридна смола. Използвана е съвременна апаратура с възможности за получаване на максимално точна информация за изследваните обекти.

Получените резултати дават отговор на въпросите, поставени в литературния обзор, направените изводи и формулираните цели и задачи.

Синтезирани са десет функционални производни на небелтъчните АК парафлуорофенилаланин (H-Phe(p-F)-OH) и канаванин (H-Cav-OH), чрез предварително подбрани условия за синтез. Структурата на синтезираните аминокиселинни производни е доказана чрез MS, елементарен анализ и ъгъл на оптично въртене $[\alpha]_{546}^{20}$.

С помощта на високоефективна течна хроматография и капилярна електрофореза е доказано успешното разделяне на двата енантиомера на H-D,L-Phe-(p-F)-OH, както и чистотата на крайните свободни АК - HBr.H- D-Phe-(p-F)-OH и HBr.H-L-Phe-(p-F)-OH.

Чрез използване на SPPS са синтезирани нативните AVPI и NT (8-13) пептидни фрагменти, 3 нови неописани в литературата AVPI-пептидни аналога, 6 нови неописани

в литературата NT (8-13) аналога. Синтезираните пептиди са получени в добиви 61%-79 тегл. % и висока чистота 93% - 97%, доказани чрез високоефективна течна хроматография и капилярна електрофореза. Всички съединения са охарактеризирани чрез ESI-MS и специфичен ъгъл на оптично въртене.

Синтезирани са три нови SMAC-NT пептидни конюгата с подходящо подобрена структура, за които не намерихме информация в научната литература:

- T-CON A - Ala-Val-Pro-Ile-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg;
- T-CON C - Ala-Val-Pro-Ile-Cav-Cav-Pro-Tyr-Ile-Leu;
- T-CON D - Ala-Val-Pro-Ile-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu.

Чистотата на пептидните конюгати е 90%-95%, а добивите са в границите 59%-76%. Съединенията са охарактеризирани чрез ESI-MS и специфичен ъгъл на оптично въртене.

Изследвана е хидролитичната стабилност на подобрени на случаен принцип пептидни аналози при три физиологични условия и след едногодишно съхранение.

Проведен е първоначален скрининг за аналгетична активност на синтезираните невротензиновите аналози, чрез използване на модел на периферна болка, като при аналога Cav-Cav-Pro-Tyr-Ile-Leu е проучен ефекта и при модел на централна болка. Получените резултати са показател за реализиране на аналгетичен ефект по централен механизъм.

Трябва да се отбележи, че са използвани съвременни спектрални методи за охарактеризиране на получените пептидни аналози, като електроспрей-йонизационна масспектрометрия, ЯМР- спектроскопия. Експериментите *in vivo* са проведени в Института по невробиология – БАН.

Изводи и приноси - Считаю, че докторантката е успяла да обобщи големия обем от данни в направеното заключение. В предложените изводи логично и ясно са резюмирани най-важните и значими резултати от изследването. Чрез тях убедително е доказана научната стойност на представения труд. Приносите на дисертационния труд са добре формулирани и могат да се считат за оригинални.

Оценка на личния принос на кандидата

Резултатите от дисертацията са описани в 3 публикации, 2 от които с импакт фактор или импакт ранг. Има 3 участия с доклади на научни форуми и 3 постерни участия. Докторантката има участие в научен проект, финансиран от МУ-Варна. Всичко това ми дава основание да приема, че приносът на асистент Михайлова в разработването на дисертацията, описването и интерпретацията на резултатите, както и оформянето им като научни публикации, е съществен.

Критични забележки и препоръки

Нямам препоръки и критични забележки към представената дисертация. На някои места текстът се нуждае от допълнителен прочит, за да се избегнат техническите и правописни грешки, както и неточни изрази.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният дисертационен труд отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника за развитие на академичния състав на Медицински университет „проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна. Убеден съм, че разработването му е помогнало за изграждането на асистент Михайлова като самостоятелен научен работник, способен да получава, анализира и представя оригинални научни резултати. Това ми дава основание да дам положителна оценка на проведеното изследване и убедено да предложа на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на ас. Силвия Георгиева Михайлова в Професионално направление 4.2 Химически науки, докторска програма по специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“.

25 октомври 2019 година

Варна

Изготвил становището:

проф. Любомир Македонски, дх

