

РЕЦЕНЗИЯ

Относно: Конкурс за „Доцент“ по професионално направление 4.2. „Химически науки“, научна специалност 01.05.10 „Биоорганична химия, химия на природните и физиологични вещества“ за нуждите на лаб. „Химия и биофизика на белтъци и ензими ХББЕ“ на ИОХЦФ, БАН.

Рецензент: Доцент дн Иванка Стойнева, ИОХЦФ-БАН, съгласно заповед N НО-05-05 4/04.04.2016.

Конкурсът за заемане на академична длъжност „доцент“ е обявен в Държавен вестник, бр.103/30.2015 г и в срок са подадени документите на единствен кандидат гл. ас. д-р Мая Христова Гунчева. Много добро впечатление прави старателното подреждане на материалите по конкурса.

I. Кратки биографични данни и кариерен профил на кандидата.

Гл. ас. д-р Мая Гунчева е родена в гр. Русе , където завършва средното си образование в Икономически техникум. През 1998 г. завършва висшето си образование в Химически факултет, Софийски Университет „Св. Кл. Орхидски“, и се дипломира като магистър-химик по органична и аналитична химия с много добър успех. В периода 2000 – 2003 г. Мая Гунчева е редовен докторант в ИОХЦФ-БАН. Успешно защитава дисертационен труд на тема „N-ацилирани ариламиди като моделни субстрати за амидохидролази. Кинетика и молекулно моделиране“ под научното ръководство на доц. д-р. Николина Стамболиева и придобива научна и образователна степен „Доктор“ . След защитата на дисертацията тя последователно заема длъжностите : химик (2003-2004 г), н. с. II ст. (2004 – 2010 г) , а от 2010 г и досега е главен асистент в ИОХЦФ..

2. Научни трудове и наукомерични данни

В конкурса кандидатът представя за участие **24** публикации, като **3** от тях са използваните за придобиване на научната степен „доктор“. **21** работи са в специализирани научни списания с импакт фактор, една публикация е в списание без импакт фактор, а две са в материали от симпозиуми. В **15** от публикациите М. Гунчева е първи автор, останалите са в съавторство. По-голямата част от научните трудове са публикувани в престижни специализирани международни издания като FEBS J., Process Biochem., Catalysis Communications, Chemical Engineering J., RSC Advances, Int. J. Biol. Macromol., Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. Общият импакт фактор на статиите, представени за участие в конкурса, е **45.7**, а индивидуалният импакт фактор е

11.00, и съм убедена, че личният принос на М. Гунчева е съществен във всички . научни публикации.. Публикуваните научни трудове представени за участие в конкурса са цитирани **138** пъти в международни научни списания (според данните от Web of science и Scopus), което е показател за високото качество на научната продукция на кандидата. Прави впечатление , че обзорният труд N 7 е цитиран 59 пъти в научната литературата и той е 43% от общия брой. Индексът на Hirsch е **6** според данните от Scopus и представения списък на забелязаните цитати. Част от научните резултати са представени на 12 международни научни форума, предимно в последните години.

3. Оценка на приносите от научно-изследователската дейност на гл. ас. М. Гунчева

Представените за участие в конкурса научни трудове на М. Гунчева са в областта на биоорганичната химия. Научните приноси на кандидата са групирани в следните направления:

- Структурни, теоретични и кинетични изследвания върху субстратна специфичнос и инхубиторен анализ на пеницилин G ацилази и липази от различен бактериален произход
- Изследвания върху стабилността и свойствата на липази и протеини чрез:
 - а) имобилизация върху полимерни органични и нови перспективни неорганични материали
 - б) добавяне на йонни и нейонни повърхностно активни агенти

Естествено продължение на изследванията извършени по време на разработването на дисертационния й труд е прилагането на комбинативен подход за изясняване на молекулния механизъм и специфичността на две бактериални пеницилин G ацилази - *Escherichia coli* и *Alcaligenes faecalis*. Извършен е молекулен дизайн и са синтезирани моделни субстрати - серия фенилацетил-*p*-заместени анилиди. Резултатите от кинетичните изследвания и молекулното моделиране дават основание на авторите да изкажат хипотезата, че реакционният път на катализираната реакция зависи от вида на заместителя на напускащата група. Определящият фактор е дали свързването на субстрата се рализира с участието на единия от двата или и на двата аргинилови остатъка (ArgA145, ArgB263), участващи в изграждането на субстрат-свързващия подцентър (труд №24). Установени са корелации между изчислените скоростните

константи и различни параметри, характеризиращи напускащата група (труд №5, и №6) и е изяснен приноса за катализа на няколко функционални групи в близкото обкръжение на каталитичния център (SerB1, атакуващ нуклеофил) (труд№5). Авторите правят заключение, че нуклеофил-свързващите подцентрове за двете ацилази се различават не само по форма, но и по химичен характер. При ензима от *Alcaligenes faecalis*, за разлика от този продуциран от *E. coli*, за всички субстрати скоростопределящия етап е разпадането на тетраедричния интермедиат.

Получените кинетични и теоретични резултати имат научен принос към изясняване на механизма на ензим-катализирана хидролиза на неприродни субстрати на ацилази и трябва да се има предвид при дизайна на целеви структурите за получаване на нови антибиотици и оптимизиране на условията за ензим-катализирания синтез.

Един от основните проблеми на съвременното общество е затлъстяването и наднорменото тегло и борбата него. Това може да се преодолее чрез разработването на лекарства на основата на инхибитори на панкреатична липаза. Гунчева провежда изследвания насочени към дизайна и синтеза на нови инхибитори на панкреатичната липаза (труд №9). Синтезирана е серия съединения 4-алкиламино-2-етоксицикобут-3-ен-1,2-диони и са проведени кинетични експерименти с тях. **Установено е, че едно от изследваните съединения - 4-хексадециламино-производното, проявява инхибиторна активност съизмерима с тази на използвания като стандарт медикамент Орлистат.**

Представени са изследвания върху стабилност, активност и специфичност на липази-новоизолирани и от индустриално значение **чрез имобилизация.**

Проведени са изследвания с новоизолирана от термофилен щам липаза от *Bacillus stearothermophilus* MC7 (липаза MC7) в реакция на естерификация (труд №2, №7, №4, №12). MC7 липазата е имобилизирана върху диетиламиноетил-целулоза полипропилен, наноразмерен калаен диоксид, хитозан и полиуретан. **Авторите установяват, че имобилизацията върху диетиламиноетил-целулоза (DEAE-MC7) и полипропилен (PP-MC7) води до значително повишаване на термостабилността на ензимните препарати, което разширява възможностите за практическото им използване предимно в синтетични реакции за получаване на високомолекулни**

естери. Докато при другите изследвани реакции се наблюдава умерена активност и недобра селективност и не са подходящи биокатализатори за синтез на структурирани триглицериди.

Проведена е имобилизация върху порест полипропилен с индустриалната липаза *Candida rugosa*, в органичен разтворител като са синтезирани с висок добив 12 високомолекулни естера (труд 3), които могат да намерят приложение в хранителната, фармацевтичната и козметичната индустрия. Имобилизираният ензим показва добра **операциона стабилност, след провеждането на осем последователни реакции в среда от хексан при награване (50°C) като е регистрирано 83% запазване на първоначалната активност на ензима и висока толерантност към различни органични разтворители** (труд №4).

Гл. ас. Гунчева провежда и новаторски изследвания като осъществява имобилизация на липази от различен произход върху носители на основата на наноразмерен калаен диоксид и циркониев оксид като материали за стабилизация на ензими (труд №10, №11, №12, №13, №14, №15). Установено е, че комплексът на липаза от *Candida rugosa* с калаен диоксид в нано-форма се проявява като биокатализатор, с подобрени основни характеристики като многократно (8 пъти) повишена ензимна активност в сравнение с активността на имобилизирана върху полиуретан липаза и относително висока стабилност в алкална среда (pH 10) след голям брой реакционни цикли. Този резултат е впечатляващ тъй като при имобилизация върху други носители (органични и неорганични) при същите условия (pH 10) ензимът е напълно дезактивиран. Изследванията на гл.ас. Гунчева установяват, че липазата от *Rhizopus delemar* имобилизирана върху nanoSnO_2 (труд №14) проявява 150 пъти по-висока хидролитична активност в сравнение с тази адсорбирана върху най-масово използвания неорганичен носител силициев диоксид

С цел да се повиши количеството на ензима върху неорганичния нано-материал, авторите синтезират нано-калаен диоксид „функционализиран с аминогрупи“ (труд 13). Имобилизираната върху този носител липаза от *Rhizopus delemar* се характеризира с подобрена стереоселективност, повишена активност и стабилност в сравнение с изходните ензимни препарати.

При експериментите с друг наноразмерен носител – циркониев диоксид е установена много по-висока енантиселективност в реакция на ацилиране на (+/-

ментол (труд №15) при имобилизация на липаза от *Candida rugosa*, което вероятно се дължи на настъпващи конформационни промени при контакт с носителя.

Резултатите свързани с **имобилизация** върху различни носители на липази от дрожди (*Candida Antarctica* и *Candida rugosa*), от гъби (*Rhizopus delemar* и *Rhizomucor miehei*) и от свински панкреас показват, че тя води до **повишаване на каталитичната активност, термостабилността, рН-устойчивостта и подобрена стереоселективност в сравнение с изходните ензимни препарати. Имобилизирани препарати успешно са приложени при множество хидролизни и синтетични реакции като синтез на структурирани липиди (превръщане на орехово масло в структурирани липиди), подходящи за клинично хранене (труд №18), β-аминоестери (труд 20) и др.**

Добавянето на различни ефектори може да доведе до промяна на каталитичните свойства, стабилността и специфичността на липази и протеини с потенциално приложение в биомедицината. Първоначално М. Гунчева провежда изследвания свързани с ефектите на три серии различни нейонни сурфактанти върху стабилността на липаза от *Bacillus stearothermophilus* MC7 (труд 1), както и реакции на хидролиза и синтез на високомолекулни естери, катализирани от имобилизирана върху полипропилен липаза от *Candida rugosa*, в среда, която съдържа полиетилен гликол 2000 (труд 3 и 8). В последните години интересите на гл.ас. М.Гунчева са насочени към едно модерно научно направление – изследване ефекта на йонни течности в различни области на органичната и „зелената,, химия. В изследванията на Гунчева и колектив за пръв път е установен ефекта на йонни течности върху активността и стабилността на липаза от *Bacillus stearothermophilus* MC7 като използват 3-Метил-1-октилимидазолиев хлорид като неконвенционална среда за синтез на стеарилстрейрат с висок добив . Доказано е още, че в този “зелен” разтворител имобилизирана MC7 липаза почти напълно запазва активността си в осем работни цикъла (труд№12). Използването на серия йонни течности на основата на 1-метил-1-октил пиролидиниев катион води до повишаване на енантиселективността на имобилизирана липаза от *Rhizopus delemar* в реакция на ацилиране на (+/-)-ментол (труд №13). Изследвани са и ефектите на серия соли, съдържащи като катион 1,3-диалкил имидазолиев и като анион подсладителите захарин и ацесулфам, върху каталитичните свойства на липазите от *Rhizopus delemar* и *Candida rugosa*. Регистрирано е чувствително повишаване на стабилността на двата ензима при съхранение в разтвор при стайна температура след третирането им с разредени разтвори на йонните течности, които съдържат късоверижни алкилови заместители при азотните атоми от имидазоловия цикъл. **Този резултатат има голямо**

значение в приложен аспект, предвид широката употреба на микробиалните липази в индустрията (труд №16).

В последващи експерименти усилията на кандидата са насочени към подбор на серии йонни течности, съдържащи холинилов или 1-етил-3-метилимидазолилов катион и различни аминокиселини като аниони. Получените резултати дават възможност за пръв път да бъде оценен ефекта на биосъвместими йонни течности върху структурата и антитуморните свойства на хемоцианини изолирани от хемолимфа на Черноморски рапан. Направен е извод, че модификацията на хемоцианините с всяка от изследваните йонни течности води до съществена промяна в структурата на протеина и влошава неговата температурна стабилност. Установено е, че цитотоксичността на комплексите „йонна течност-хемоцианин” спрямо клетки от рак на млечната жлеза (MCF-7) значително е повишена в сравнение с тази на нетретираните с йонни течности протеин (труд №17, 19).

Във фокуса на изследванията с йонни течности попада и пептидният хормон инсулин. Известно е, че мономерният инсулин е много нестабилен и е склонен към агрегация и денатурация, което представлява огромен проблем за фармацевтичната индустрия. С оглед важността на проблема е оценен потенциала на серия йонни течности, съдържащи 1-бутил-3-метил имидазолиев катион и различни аниони да могат да стабилизират свински инсулин в кисела среда. Ефектът на йонните течности се изразява в повишаване на температурната стабилност и намаляване на степента на агрегация, но предизвиква реорганизация на протеиновата молекула (труд №21).

4. Учебно-преподавателска дейност.

Гл. ас. М. Гунчева е била ръководител на **двама** дипломанти за придобиване на образователно квалификационна степен „Магистър”, Магистърска програма при Химически факултет, СУ „ Медицинска химия”. Активно е участвала като ръководител на лабораторна практика по проект от ОП „Развитие на човешките ресурси“ на МОН по ПРОЕКТ BG051PO001-3.3.07-0002 „СТУДЕНТСКИ ПРАКТИКИ“на тема „Методи за имобилизация на ензими“, в която са били включени **11 магистри** от различни университети в София и Пловдив.

5. Участие в научно-изследователски и национални договори и програми

Гл. ас. М. Гунчева е била ръководител на **3** проекта, **1** научен проект финансиран от НФНИ и **2** проекта по ОП „Развитие на човешките ресурси“ Проект BG051PO001-

3.3.05.0001 „Наука и бизнес” на МОН. Тя е участник и в други 3 проекта, 2 от които са финансирани от НФНИ и 1 – от холандската фирма Лодерс и Кроклан на тема „Имобилизация на липаса *Rhizopus delemar* „.

ЗАКЛЮЧЕНИ

Анализът на научните трудове и цялата научно-изследователска активност на главен асистент д-р Мая Христова Гунчева показват, че тя е изграден специалист способен да решава актуални проблеми в областта на биоорганичната химия и биотехнологията . Научната продукция на д-р Гунчева показва умението и да работи в колектив със специалисти от други области на науката със собствен принос и идеи. Материалите, представени от кандидата, отговарят обем и качество както националните критерии за заемане на академична длъжност доцент, така и специфичните изисквания на правилника на ИОХЦФ-БАН.

Имайки предвид гореизложеното и комплексната оценка на дейността на кандидата, препоръчвам с убеденост на Научното жури при Института по Органична химия с Център по фитохимия при БАН да присъди на гл. ас. д-р Мая Гунчева академичната длъжност „ ДОЦЕНТ” по професионално направление 4.2. „Химически науки”, научна специалност, 01.05.10. „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества”.

13.05.2016 г.

Доцент дн Ив. Стойнева