

РЕЦЕНЗИЯ

Върху трудовете на доц. дн **Иванка Борисова Стойнева**, представени в конкурса за „**професор**“, обявен от Института по органична химия с център по фитохимия в ДВ, бр. 103/27.12.2016 г., по професионално направление „Химически науки“ - 4.2, научна специалност 01.05.10 „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества“.

Рецензент: проф. дн Райна Ботева, Национален Център по радиобиология и радиационна защита, София, член на научно жури със Заповед № НО-05-05-16 от 6.03.2017 г. на Директора на ИОХЦФ, БАН, София

Единствен кандидат в конкурса за академичната длъжност „**професор**“ по научната специалност 01.05.10 „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества“, обявен от Института по органична химия с център по фитохимия, е доц. дн Иванка Стойнева. Тя е представила всички материали и документи, които се изискват за участие в този конкурс и отговаря напълно на условията за заемане на академичната длъжност „**професор**“, съгласно българското законодателство и правилниците на ИОХЦФ, БАН.

Доц. Иванка Стойнева е завършила специалност „Химия“ в Софийски Университет с отличен успех през 1978 година. Кандидат на Химическите науки е от 1988 г., след защита на дисертационен труд в ИОХЦФ, БАН, под ръководството на проф. дн Димитър Петков на тема: „ P_i –специфичност при ензимната хидролиза и синтеза на моделни пептиди“. През 2015 г. защитава успешно дисертация за присъждане на научната степен „Доктор на науките“ на тема: „Дизайн и синтез на пептиди и гликоконюгати с потенциално приложение в биомедицината и екологията“. От 1988 г. година е научен сътрудник в ИОХЦФ, БАН, а през 1995 г. е хабитилитирана като доцент в същия институт на БАН.

Доц. Иванка Стойнева е един от основателите на Българското пептидно дружество (БПД) и много активен участник, член на организационните комитети на всичките седем симпозиуми с международно участие на това дружество, проведени в

България през последните 20 години. Освен това тя е национален представител в Съвета на Европейското пептидно дружество (ЕПД) в периода 2010-2014 г., председател на Организационния съвет на Европейския пептиден симпозиум (ЕПС), проведен през 2014 г. в София, както и член на Научния комитет на ЕПС, проведен през 2012 г. в Атина, Гърция. От личните си контакти и разговори с доц. Стойнева ми е известно, че тя влага много енергия, време и ентузиазъм повече от 20 години в организационна и експертна дейност, свързана с инициативи на Българското и Европейското пептидни дружества. Член е на научната комисия към борда на ЕПД и на Управителния съвет на БПД, което показва, че е признат и безспорен авторитет от национален и международен мащаб в тези научни среди. Била е също така и член на организационния комитет на мероприятие, организирано под егидата на FEBS и проведено в София през 2009, на тема „School of Protein Science, From Basic Research to Drug Design“. Значителна част от експертната и организационна дейност на доц. Стойнева заема участието ѝ като председател и член на повече от 30 научни журита за присъждане на академични степени и звания и изпитни комисии, свързани с кариерното израстване на научни работници. Рецензент е на научни статии за авторитетни международни списания, както и проекти на МОН. Друга важна и отговорна част от нейната научно-изследователска и преподавателска дейност, която е от съществено значение за настоящия конкурс за професор, е свързана с обучението на магистри от ХТМУ, Биологическия и Химическия факултети на СУ „Св. Климент Охридски“. Тя е ръководител на 10 и консултант на 7 дипломни работи на магистри от тези висши учебни заведения, както и ръководител на 4 и консултант на 2 докторантури. Преподавателската ѝ дейност, изразена в лекционни курсове и лабораторни упражнения на студенти от магистърските програми “Молекулярни основи на фармацевтичните биотехнологии“ на ХТМУ, София, „Биотехнологии“ и „Биоорганична химия“ на Химическия и Биологическия факултети на СУ, също е добър атестат за доц. Стойнева като университетски преподавател.

В периода 2013-2016 г. е била председател на Общото събрание на учените в ИОХЦФ, член е на Научния съвет на ИОХЦФ и от 2010 г. е ръководител на лаборатория „Химия и биофизика на белтъци и ензими“ в ИОХЦФ. Прави отлично впечатление и участието ѝ в повече от 20 научно-изследователски и приложни проекти и договори, повечето от които са финансирани от МОН, БАН и Софарма АД. На 8 от тях тя е ръководител, а в други 13, участник в научните колективи.

Доц. Стойнева е съавтор на 69 научни труда с общ импакт фактор 83. 44 от всички научни трудове са публикувани в специализирани научни издания с импакт фактор, а 16 са публикувани в специализирани издания на научни форуми и конференции. Кандидатката е участвала и в написването на една глава от книга и има участия в 7 авторски свидетелства и в 2 заявки за патенти. Има също така и общо 54 участия в научни симпозиуми и конференции с лекции и постери. Работите ѝ са цитирани от други автори общо 463 пъти, от които 313 пъти след хабилитацията ѝ като доцент.

От всичките 69 труда на доц. Стойнева, 21 са били вече оценени в конкурса за доцент и 31 труда са рецензирани във връзка с процедурата по защита на дисертационен труд на тема „Дизайн и синтез на пептиди и гликоконюгати с потенциално приложение в биомедицината и екологията“ за придобиване на научната степен „Доктор на науките“ през 2015 г. Поради тази причина споменатите публикации няма да бъдат разгледани подробно в настоящата рецензия, но ще бъдат взети предвид при крайната оценка на кандидата.

След придобиване на научната степен „Доктор на науките“ през 2015 г., през периода 2015-2017 г., доц. Стойнева публикува общо 18 научни труда, върху които ще бъде фокусирано главно вниманието ми в рецензията. Общото за тези работи е, че подобно на предходните ѝ научни разработки, изследват добре дефинирани, актуални от научно-изследователска, практическа и методична гледна точка научни и практически, предимно биотехнологични задачи и проблеми, свързани основно с приложения за медицински и екологични цели. Типичен почерк на доц. Стойнева е използването на оригинални, нови подходи и методики за решаването на полезни за хората задачи, резултатите от които водят до подобряване качеството на живота. Прави впечатление неразривната връзка и хармонията, които съществуват между фундаменталните научни постижения и тези с научно-приложен характер, важна отличителна черта, която обособява профила на изследванията на доц. Стойнева и придава на научните ѝ разработки оригиналност, актуалност, научна и практическа значимост и илюстрират стремежа ѝ да прави „полезни за хората“ разработки.

Съществени приноси с фундаментален, приложен и методичен характер в трудовете на доц. Стойнева виждам в следните разработки:

1. Най-голямо значение от фундаментална гледна точка, по мое мнение, имат работите на кандидатката върху синтеза, структурното охарактеризиране и изследване на функционалните механизми на биологично активни пептиди и полипептиди, приложими в медицината за лечение на социално значими

заболявания. Такива са пептидите, които проявяват антихипертензивни свойства и принадлежат към семейството на АСЕ-инхибиторите (инхибитори на ангиотензин I превръщащия ензим). Природните АСЕ-инхибитори най-често са пролинови трипептиди на валина и изолевцина (H-Val-Pro-Pro-OH и H-Ile-Pro-Pro-OH) или пептиди, съдържащи тези фрагменти. Известни са с терапевтичните си свойства и намират широко приложение за лечение на хипертония, основен рисков фактор за такива социално-значими заболявания като инсулт, инфаркт на миокарда, сърдечна недостатъчност, артериални болести и хронични бъбречни заболявания. Доц. Стойнева, в съавторство с колеги от ИОХЦФ, участва в разработването на методика и стратегия за синтеза на общо десет трипептида с антихипертензивно действие и потенциално медицинско приложение като лекарства или хранителни добавки (трудове 3,16,47-49,53,55 и 57). Практическата работа по пептидният синтез елегантно се предхожда от задълбочен и компетентен теоретичен анализ на активния център на ензима и на ензим-субстратните взаимодействия. Това помага на авторите да получат детайлна предварителна информация за конформацията и аминокиселинната последователност на пептидните АСЕ-инхибитори, за които може да се очаква максимална активност, както и да изберат най-удачния, твърдофазния метод за синтеза им. Като продължение и допълнение в тази насока може да се считат и трудове 16, 49 и 55. Първият от тях, на базата на интегриран подход, който включва ЯМР спектрален анализ плюс теоретичен подход, изследва цис-транс изомеризацията на пептидната връзка в дипептида Val-Pro като потенциален АСЕ-инхибитор и установява, че тя е функция от рН на средата, а последните два представят метод за химичен синтез на естери на аминокиселините валин, пролин и изолевцин със захари, отново подробно охарактеризирани с ЯМР анализи, за които също е установена АСЕ инхибиторна активност.

Добър пример в същата посока е и синтезът на полипептидният хормон инсулин, прилаган за лечението на диабет, друго социално-значимо и широко разпространено заболяване. Разработката е осъществена по време на изпълнение на договор със Софарма АД за създаване на технология за получаване на човешки инсулин (труд 61). Механичните изследвания върху катализирана от ензима трипсин трансформация на свински в човешки

инсулин, които тя провежда, дават и отговор на важен фундаментален, но спорен в научната литература въпрос, който касае механизма, по който протича ензимната реакция. Експериментално доц. Стойнева доказва, че семисинтезът на човешки инсулин в алкохолна среда протича по кондензационен механизъм, а не е транспептидиране. Регистрирано е директно участие на алкохола 1,4-бутандиол в образуването на реактивоспособно междинно съединение, което ускорява реакцията и понижава страничните реакции.

2. Висока оценка заслужават и научните разработки, фокусирани върху молекулния дизайн и синтеза на различни биоконюгати на базата на α -аминофосфоновите киселини и техните производни, които са структурно подобни на α -аминокиселините. Това ги прави ефективни инхибитори на ензими и като такива, те проявяват антимикробна, антитуморна и антивирусна активности, което ги прави потенциално приложими в медицината и фармацията. Синтезирани са нови хибридни съединения, съчетаващи антрацен и фуран-съдържащ аминоксфонат като са използвани класически и нов (микровълнов) синтетичен подходи (труд 5). Получените конюгати са охарактеризирани с ЯМР и редица други спектрални методи (абсорбционни и флуоресцентни), както и с рентгеноструктурен анализ. Постигнато е разделяне на рацемичните смеси до чисти енантиомери, както в аналитичен, така и в полупрепаративен режим, необходимо за провеждането на *in vivo* биологични изследвания. Съединенията са показали слаб генотоксичен, умерен кластогенен и висок антипролиферативен ефект върху клетки от костен мозък на мишки, без да засягат съществено хематопоезата.
3. Определено внимание заслужава и синтеза на нови фталоцианинови конюгати (трудове 2,6 и 7), фотосенсибилизатори с приложение при фотодинамичната терапия на тумори. Новите фотосенсибилизатори са синтезирани на базата на мономолекулни лутеций фталоцианини с кватернизирани периферни и непериферни заместители. Охарактеризирани са фотохимичните и фотофизичните им свойства, тяхната селективност, цитотоксичност и фотодинамична активност като за целта са използвани туморни клетъчни линии и патогенни бактерии. Получени са и нови конюгати на Zn фталоцианина с аминокиселините тирозин, аргинин и фенилаланин (труд 6). Това е постигнато след приложението на нов подход, който

позволява редукция на нитро-групи посредством хидрогенолиза, катализирана от 10% Pd/C. Тази реакция е осъществена за първи път при фталоцианиновите комплекси.

4. Друг важен акцент в научно-изследователските разработки на доц. Стойнева представляват изследванията върху галактозидази и ензимната хидролиза на гликозидната връзка (трудове 1 и 21). С цел хидролизирани олигозахариди от бобови и соеви храни до усвоими монозахари, атрактивни за хранителната промишленост, доц. Стойнева изолира, пречиства и охарактеризира ензимите α -галактозидаза и инвертаза от плесени и показва, че в комбинация те проявяват синергично действие и могат да хидролизират олигозахариди до монозахари. Разработен е и метод за получаване на високо активна α -галактозидаза от гъба (*Humicola lutea*), култивирана върху евтина изходна суровина, каквото е соевото брашно. Освен за хранителната индустрия, споменатите разработки са от значение и за медицината, защото е показано, че ензимът α -галактозидаза може да се използва за преобразуване на кръвни групи и под формата на ензим-заместителна терапия при лечението на болестта на Фабри, рядко наследствено заболяване, свързано с обмяната на сфинголипиди. Синтезирани са и нови конюгати на кумарина, флуорогенни инхибитори и субстрати на липази (труд 46), с чиято помощ могат да се определят качествено и количествено свободни имобилизирани липази в различни хетерогенни системи, които трудно могат да бъдат изследвани с други спектрални методи.
5. С медицинска насоченост са и разработките, описани в трудовете 4 и 52 върху изолиране и охарактеризиране на биоактивен гликопротеин от лечебното растение *Galega officinalis L.*, известно като жаблек, със силно инхибиторно действие върху агрегацията на тромбоцити. Интересен е фактът, че това е първият известен препарат с антикоагулиращо действие, изолиран от растителен източник, перспективен като фармацевтичен продукт с потенциално приложение в медицината за третиране на пациенти с инфаркти и инсулти.
6. В трудовете 8,10-15,17,18 и 20 са отразени резултати от разработена от доц. Стойнева нова тематика, фокусирана върху повърхностно активни вещества, известни като биосърфактанти, продуцирани от бактериални щамове на *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Pseudomonas* и *Candida bombicola*. Това

са гликолипиди, идентифицирани като трехалозолипиди, рамнолипиди и софоролипиди. В тези работи, в колективи предимно от микробиолози от БАН, много ясно могат да се оценят и диференцират съществените приноси на доц. Стойнева. Основополагащите умения и широките ѝ познания, придобити в резултат от дългогодишната ѝ научно-изследователска работа върху пречистване и охарактеризиране на широк спектър от разнообразни молекули като протеини, ензими, пептиди, гликолипиди и различни биоконюгати, както и безспорните ѝ умения, натрупан опит и знания в пептидни и органичен синтез, ясно определят приноса ѝ в тези разработки. Тя има също така и ключова роля в разработването на метод за химичен синтез на моделни биосърфактанти (трудове 49 и 50), който включва естерификация на незащитени моно- и дизахариди с цианометилови естери на наситени мастни киселини. Получените естери на захарозата и трехалозата са охарактеризирани компетентно, при което са установени физикохимични свойства, съизмерими с тези на биосърфактантите от бактериален произход. Част от широкия спектър на интересни и полезни активности на гликолипидните биосърфактанти, важни за медицинското им приложение, са антибактериалното, цитотоксичното и антитуморното им действие. Антитуморната активност е изследвана с рамнолипидни фракции от щам *Pseudomonas aeruginosa* и с трехалозолипидния сърфактант от новоизолирания щам *Nocardia farcinica* като за целта са използвани различни клетъчни туморни линии за остра и хронична миелоидна левкемия, Т-лимфоцитна левкемия и карцином на пикочния мехур. За пръв път е показано, че монорамнолипидната фракция е в пъти по-активна при всички изследвани клетъчни линии в сравнение с дирамнолипидите.

Изследвани са и физикохимичните свойства на изолираните трехалозо-, рамно- и софоро-липиди, които ги характеризират като повърхностно активни молекули, подходящи стабилизатори на емулсии в козметиката и хранителната промишленост. С екологична цел, пречистване на замърсени с нефт води и почви, са изследвани различни бактериални щамове, продуциращи биосърфактанти и разграждащи едновременно както алифатни, така и ароматни въглеводороди. Постигнати са отлични резултати с изследваните бактерии в свободно и имобилизирано състояние, които показват, че те могат да разграждат нефт, алифатни и ароматни

въглеродороди, потенциал за разнообразни приложения с екологични цели, предимно за пречистване на нефтени разливи и отпадни води, съдържащи ксенобиотици.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доц. Стойнева е утвърден специалист с висока ерудиция и авторитет в ензимния катализ, пептидният синтез, синтеза на гликоконюгати и гликолипиди и други биоконюгати, с потенциално приложение предимно в медицината и екологията. Тя разработва нови, както за лабораторията, на която е ръководител, така и за ИОХЦФ, основно биотехнологични направления. Трудовете на доц. Стойнева съдържат съществени научни, методични и приложни приноси и са цитирани многократно от наши и чуждестранни учени, общо над 450 пъти.

Доц. Стойнева е участвала и ръководила успешно разработването на повече от 20 научно-изследователски проекта с разнообразни източници на финансиране, осъществени от различни колективи, с което е доказала, че умее да ръководи групи от изследователи и специалисти от различни институции като БАН, СУ, Софарма АД. Тя има впечатляваща и дългогодишна преподавателска дейност. Била е ръководител и консултант на значителен брой дипломанти, специализанти и докторанти и е доказала, че умее да работи със студенти и млади научни работници и да ги мотивира за научно-изследователска работа.

Международните ѝ връзки, главно по линията на Българското и Европейското пептидни дружества, всеотдайната ѝ организационна и научна работа като председател и участник в комитети, свързани с многобройните инициативи на тези две дружества, заслужават да бъдат отбелязани още веднъж, защото издигат авторитета на българската наука и я правят разпознаваема и уважавана в международен мащаб.

От изложеното дотук става ясно, че доц. Стойнева отговаря на всички изисквания, които се предявяват към кандидати за академичната длъжност „професор“. Всичко това ми дава основание убедено да препоръчам на почитаемото научно жури и на Научния съвет на ИОХЦФ, БАН, да присъдят на доц. дн Иванка Борисова Стойнева научното звание „професор“, което тя напълно заслужава.

11.04.2017 г.

Рецензент:
/проф. дн Райна Ботева/