

## СТАНОВИЩЕ

от член-кор. дн Вася Стефанова Банкова, професор, ИОХЦФ - БАН

за дисертационен труд за присъждане на научна степен **“доктор на науките”** в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.2. Химически науки, научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“

Автор: **проф. д-р инж. Павлинка Александрова Долашка – ИОХЦФ-БАН.**

Тема: **Структура и функция на медни гликопротеини, свързващи кислородни форми**

Представените от проф. Долашка материали във връзка с процедурата за защита на дисертацията са в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на ИОХЦФ и отговарят на критериите на ИОХЦФ-БАН за придобиване на научната степен „доктор на науките“. Дисертантката е приложила 50 публикации, които не са включени в дисертацията за придобиване на образователната и научна степен „доктор“, една от които - глава от книга. Представила е списък с 527 независими цитирания на тези публикации. Проф. Долашка е съавтор на 4 патента и 2 полезни модела. Тя е носител на наградата Питагор за 2012 и 2018 г. за научен колектив с успешна експлоатация и комерсиализация на научните продукти.

Дисертацията на проф. Долашка е посветена на задълбоченото проучване на структурата, функцията и възможностите за фармацевтично приложение на мед-съдържащи гликопротеини, свързващи форми на кислорода. Обект на изследванията са гликопротеини от микроорганизми и безгръбначни организми. Все по-острата необходимост в световен мащаб от нови антибактериални, антивирусни и противоракови средства определя темата на дисертацията като интересна и актуална.

Литературният обзор на дисертацията показва отлично и в дълбочина познаване на проблематиката, той обхваща над 370 литературни източника, от които около 30% са публикувани след 2010 г. Литературните данни са разгледани критично и са очертани насоки за нови изследвания в съответствие с отбелязаните празнини и нерешени въпроси в познанията за структурата, функцията и терапевтичния потенциал на медни гликопротеини. На тази основа ясно са формулирани целта и конкретните задачи на дисертационния труд, чието успешно изпълнение е описано по-нататък.

Методичните подходи, използвани в изследванията в дисертационния труд, напълно съответстват на поставените задачи. Приложени са както класически, така и най-нови методи от областта на биохимията, биофизиката и молекулярната биология. Особено широко застъпено е приложението на масспектрометрията за структурен анализ на изследваните молекули - за определяне на молекулните маси и аминокиселинната последователност на протеини и пептиди, за определяне

на структурата на гликани и гликопептиди. Използвани са различни методи на йонизация, различни методи за въвеждане на пробата, както и различни детектори, според конкретните цели на анализа - MALDI-TOF-TOF, LC/ESI-MS, LC-Q-trap-MS/MS и нано-ESI-MS. Дисертантката показва отлично владение на приложението на масспектрометрията в областта на протеомиката. Служи си с нея успешно и изобретателно и за анализа на въглехидратната структура на хемоцианини.

Дисертационният труд съдържа оригинални приноси, които могат да се характеризират като новост за науката и разширяване на съществуващите знания, както и приноси с несъмнен потенциал за практическо приложение. Важно достойнство на работата е фактът, че са обхванати различни аспекти на разглеждания проблем. Изолирането и пречистването на нови гликозилирани супероксиддисмутази от микроорганизми (гъбички и дрожди), на нови гликозилирани хемоцианини от молюски и артроподи, изясняването на тяхната структура и физикохимични свойства, охарактеризиране на техните въглехидратни структури са допълнени от установяване на ролята на гликаните при сформирание на третичната структура на хемоцианина. Изяснена е и ролята на хемоцианини от тип Mollusca в имунната защита на организма. Задълбочени изследвания върху антибактериалното, антивирусното и антитуморно действие на изолираните продукти и възможните механизми на това действие са показали високата активност на някои от тях, което е предпоставка за практическо приложение. Високо оценявам създаването на протеомна карта за цитостатичното действие на хемоцианина от *H. lucorum* върху човешката клетъчна линия от рак на пикочния мехур - този съвременен подход позволява да се хвърли светлина върху механизма на действие на тези гликопротеини. Заслужава да се отбележи и разработеният подход за определяне на сложни въглехидратни структури и центъра на свързване на гликаните в гликопротеините.

Нямам критични бележки по същество и препоръки към дисертацията, имам само една малка забележка – таксономичната единица на Mollusca и Arthropoda е тип, а не вид. Този пропуск не се забелязва в английския текст, където таксонът не е споменат директно.

Резултатите, представени в дисертационния труд, са публикувани в 49 научни статии и 4 кратки съобщения в международни научни списания, както и една глава от книга. За качеството на публикациите е показателен броят на тези в списания от първия квартал в съответната област (Q1) - 20, както и броят на цитатите на работите, включени в дисертацията – 527, или средно над 10 цитата на публикация. Несъмнен е същественият личен принос на дисертантката в представените публикации – фактът, че тя е автор за кореспонденция в 35 от 50 публикации е красноречив. Мога да добавя и личните си впечатления от проф. Долашка – познавам я от много години като компетентен, изобретателен, всеотдаен, целенасочен и упорит изследовател.

Авторефератът напълно отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на проф. Долашка съдържа съществени и значими оригинални научни и научно-приложни приноси в областта на биоорганичната химия, които отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ИОХЦФ – БАН. Обемът и несъмненото високо качество на научните приноси, отразени в дисертацията, както и цялостната дейност на дисертантката като международно утвърден учен с подчертана способност да намира практическо приложение на получените от нея фундаментални научни резултати, ми дават основание с дълбоко убеждение да гласувам положително за присъждането на проф. д-р Павлина Долашка на научната степен „доктор на науките“ и да препоръчам на почитаемите членове на научното жури да направят същото.

31.07.2019 г.

**Изготвил становището:** .....

Член-кор. проф. дн Вася Банкова

## BRIEF REVIEW

By Prof. Vassya Stefanova Bankova, DSci, Corresponding Member of the Bulgarian Academy of Sciences, Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences

of the Doctoral Thesis presented for awarding the degree “**Doctor of Sciences**” in the Field of higher education 4.0. "Natural Sciences", Professional Field 4.2. "Chemical Sciences", scientific specialty „*Bioorganic Chemistry, Chemistry of Natural and Physiologically Active Substances*”

**Author:** Prof. Dr. Pavlinka Alexandrova Dolashka, Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, BAS

**Topic:** "Structure and function of copper glycoproteins, binding oxygen forms”

The documents presented by Prof. Dolashka with respect to the thesis defense procedure are in accordance with the Regulations for the Development of the Academic Staff of the Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences (IOCCP – BAS), and meet the criteria of the Institute for obtaining the degree of Doctor of Sciences. The candidate has provided 50 publications not included in the PhD thesis (one of them a book chapter), and a list of 527 citations of these publications. Prof. Dolashka co-authored 4 patents and 2 utility models. She is the winner of the National Pythagoras Prize for 2012 and 2018 for a research team with successful exploitation and commercialization of scientific products.

Prof. Dolashka's thesis is an in-depth study of the structure, function, and pharmaceutical potential of copper glycoproteins, binding oxygen forms. The research is focused on glycoproteins from microorganisms and invertebrates. The increasing worldwide need for new antibacterial, antiviral and anticancer agents defines the topic of the thesis as advanced and important.

The literature review of the thesis demonstrates an excellent and deep knowledge of the problem, it covers over 370 literature sources, of which about 30% are published after 2010. Literature data have been reviewed critically and guidelines for new research have been outlined in agreement with the noted gaps and unresolved issues in the knowledge about the structure, function and therapeutic potential of copper glycoproteins. On this basis, the purpose and specific tasks of the thesis are clearly formulated, and further in the text their successful completion is described.

The methods applied are appropriate to the tasks set. Both classical and up-to-date methods in the field of biochemistry, biophysics and molecular biology have been applied. Mass spectrometry has been widely used for structural analysis of the molecules studied - for the determination of molecular masses and amino acid sequence of proteins and peptides, for the determination of the structure of glycans and glycopeptides. Different ionization methods, different methods of sample introduction, and different detectors were used according to the specific analysis objectives - MALDI-TOF-TOF, LC/ESI-MS, LC-Q-trap-MS / MS and nano-ESI -MS. Prof. Dolashka

has demonstrated excellent expertise in the application of mass spectrometry in proteomics. MS has been successfully and inventively applied also to the analysis of the carbohydrate structure of hemocyanins.

The thesis contains original contributions, which can be characterized as novelty for science and extension of existing knowledge, as well as contributions with undoubted potential for practical application. An important merit of the work is the fact that various aspects of the problem under consideration have been covered. The isolation and purification of new glycosylated superoxide dismutases from microorganisms (fungi and yeast), of new glycosylated hemocyanins from molluscan and arthropodan species, their structure elucidation and physicochemical properties, the characterization of their carbohydrate structures, have been complemented by establishing the role of glycans in the formation of the tertiary structure of hemocyanins. The role of molluscan hemocyanins in the immune defense of the body has also been clarified.

Extensive studies on the antibacterial, antiviral and antitumor effects of isolated products and their possible mechanisms of action have revealed very promising activities of some of them, which is a prerequisite for practical application. I appreciate the development of a proteomic map for the cytostatic action of *H. lucorum* hemocyanin on a human bladder cancer cell line - this modern approach allows shedding light on the mechanism of action of these glycoproteins. Also noteworthy is the approach developed to determine complex carbohydrate structures and the center of glycan binding in glycoproteins.

I have no criticisms and no recommendations for the thesis, I have only one small note - the taxonomic unit of Mollusca and Arthropoda is a type, not a species. This omission is only in the Bulgarian text, it is not noticeable in the English version, where the taxon is not mentioned directly.

The results presented in the thesis are published in 49 scientific papers and 4 short reports in international research journals, as well as one book chapter. The quality of the publications is illustrated by the number of those in journals from the first quartile in the respective field (Q1) - 20, as well as the number of citations of the papers included in the thesis - 527, or an average of more than 10 citations per publication. The most significant personal contribution of the candidate to the presented publications is obvious: she is the corresponding author of 35 out of 50 publications. I would also add my personal impressions of Prof. Dolashka - I have known her for many years as a competent, resourceful, dedicated, purposeful and persistent researcher.

The autoreferate fully reflects the main results achieved in the dissertation.

## **CONCLUSION**

Prof. Dolashka's thesis contains substantial and significant original fundamental and applied scientific contributions in the field of bioorganic chemistry, which meet all the requirements of the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for the implementation of the same Law and the corresponding Regulations of the IOCCP - BAS. The volume and undoubtedly high quality of the scientific contributions of the thesis, as well as the overall activities of the candidate as an internationally recognized scientist with a marked ability to find

practical application of her fundamental scientific results, give me a compelling reason to vote positively for the award of the degree “Doctor of Sciences” to Prof. Pavlina Dolashka, and to recommend to the members of the Honorable Scientific Jury to vote the same way.

31.07.2019.

**Reviewer:** .....

Prof. Vassya Bankova, DSc