

## СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Иванка Георгиева Станкова – Югозападен Университет “Неофит Рилски“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

в област на висше образование 4. Природни науки

професионално направление 4.2. „Химически науки“

научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“

**Автор:** Боряна Красиминова Якимова

**Тема:** Дизайн и синтез на биологично активни пептиди като потенциални инхибитори на ангиотензин превръщащия ензим (ACE I)

**Научен ръководител:** проф. дн Иванка Стойнева, Институт по органична химия с център по фитохимия

Хипертонията е водещ рисков фактор за здравето на хората в световен мащаб, а в България е на едно от водещите места по заболявания. В клиничната практика за лечение на хипертония се използват: вазодилататори, блокери на Ca-канални, блокери на AngII рецептори и инхибитори на ангиотензин превръщащият ензим-I(ACEI). Веществата, които повлияват функционирането на системата ренин-ангиотензин (RAS), са се доказали като най-ефективни медикаменти и постигат най-съществен ефект в нормализирането на артериалното кръвно налягане. Във времето на „новата нормалност“ интересът към изследванията на нови инхибитори на ангиотензин-превръщащия ензим (ACEI) като модулатори на ренин-ангиотензиновата система (RAS) нараства много. Това се дължи не само на значението им като лекарства за лечение на хипертония, но и заради техният потенциал за изучаване на развитието на коронавирусната инфекция (COVID-19). Всичко това определя актуалността на изследванията.

Изследванията в дисертационния труд са свързани със структурен и синтезен дизайн на късоверижни пептиди, с потенциални свойства като инхибитори на ангиотензин-превръщащия ензим (ACE), синтез на аминокислотни естери на моно- и дизахари като потенциални инхибитори на ангиотензин-превръщащият ензим (ACE)

както и провеждане на кинетични изследвания на новосинтезираните пептидни инхибитори с използване на флуорогенни субстрати.

За получаването на късоверижни пептиди са използвани конвенционални методи за синтез прилагани в пептидната химия - течено-фазен синтез за пролинови ди-и трипептиди, с използване на Fmoc-Cl като кондензиращ агент, както и твърдофазен пептиден синтез с използване на Fmoc стратегия и 2-хлортритилхлоридна смола, чрез който са получени 7 трипептида и един тетрапептид. Чрез твърдофазен пептиден синтез с използване на Fmoc стратегия и Wang смола са получени трипептидите H-Ile-Ala-Lys-OH и H-Val-Ala-Trp-OH. По данни в литературата моно-и полиацилирани захари с аминокиселини проявяват ACE инхибиторна активност. В дисертационния труд е използвана реакция на трансестерифициране на аминокиселинни естери за получаване на моноацилирана захароза и глюкоза. Като аминокиселини са използвани цианметилови естери на N-защитени аминокиселини, тъй като лесно се трансестерифицират поради липсата на пространствено пречене. Другата причина, поради която са използвани цианметилови естери е лесният им синтез и високите добиви на крайният продукт.

За доказване на синтезираните естери е приложена ЯМР спектроскопия (2DCOSY, DEPT135, HSQC) и е доказана структурата на естерите на захарозата със заместена OH гр. на 2-ра, 3-та и 6-та позиция в глюкопиранозилния пръстен и естерите със заместена OH гр. на 1-ва позиция във фруктофуранозилния пръстен с аминокиселините - валин, пролин и изолевцин. Съединенията проявяват слаба инхибиторна активност.

Чрез ЯМР спектроскопия е изследвана цис-транс изомеризацията на дипептида H-Val-Pro-OH. Установено е, че тя е строго рН зависима, което е в съответствие с направените теоретични изчисления. Чрез ИЧ спектроскопия е доказано, че силните вътрешномолекулни водородни връзки  $\text{NH}_2 \dots \text{O}=\text{C}-\text{N}(\text{Amide})$  и  $\text{O}=\text{C}-\text{OH} \dots \text{NH}_2$  в трипептидите H-Val-Pro-Pro-OH и H-Ile-Pro-Pro-OH възпрепятстват разграждането на трипептидите от протеолитични ензими.

Изследвана е биологичната активност на новосинтезираните съединения *in vitro* и *ex vivo* върху активността на ACEI с използване на лизиноприл за референт. Резултатите показват показва значителни разлики. В първия случай директно се изследват промените в количеството на използвания субстрат, докато във втория за активността се съди индиректно от контрактилния отговор на илеума към метаболита образуван в реакцията (AT-II).

Основните приноси на докторантката са: разработената процедура за твърдофазен синтез на нови късоверижни пептиди, неописани досега в литературата и доказани като инхибитори на ангиотензин-превръщащия ензим; прилагане на високоефективна течна хроматография и подходящите условия за разделяне на региоизомерни естери на захари. Подходящо подбрани пролинови пептиди, които показват изразено антихипертензивно действие.

Дисертацията е написана последователно и ясно като съдържа оригинални научни изследвания и резултати. Научните резултати имат определена стойност и са постигнати чрез подходящи методи и подходи. Много добро е впечатлението от прецизно проведения експеримент, от коректно описаните процедури. Вижда се, че са изпълнени и образователните задачи на докторантурата.

Научните резултати са публикувани в 4 публикации от тях 3 са с импакт фактор и една с SJR. Забелязани са 11 цитати. Резултатите от дисертацията са представени на 14 научни форума.

Нямам никакво съмнение в съществуващия принос на докторанката в изпълнението на поставените цели и задачи.

Авторефератът на дисертацията отразява в резюмиран вид съдържанието на дисертацията и е написан в съответствие с утвърдените правила.

### **Заклучение**

В заключение считам, че представеният за защита дисертационен труд съответства на изискванията за присъждане на образователната и научна степен “Доктор”. Извършената работа е внушителна по обем и разнообразна по характер, което дава основание да се предположи, че докторантката е натрупала достатъчно опит и способности за провеждане на самостоятелна научна работа в областта на неорганичната химия.

Всичко казано по-горе ме мотивира да дам без колебание положителна оценка на дисертационния труд и да подкрепя присъждането на образователната и научна степен „доктор” на докторантката Боряна Красиминова Якимова

18.05.2021 г.

Изготвил становището:

/проф. д-р Иванка Георгиева Станкова/