

СТАНОВИЩЕ

от д-р Пламен Ангелов Ангелов, доцент в ПУ „Паисий Хилендарски“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'
в област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“
Професионално направление 4.2. „Химически науки“
Докторска програма „Органична химия“

Автор: Савина Ивайлова Стоянова

Тема: „Рационален дизайн, синтез и *in vitro* изследване на метаболитни модулатори – инхибитори на карнитин ацилтрансферази“

Научен ръководител: проф. д-р Милен Богданов

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Със Заповед № РД-38-213/23.04.2025 г. на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“ съм определен за член на научното жури в процедура за защита на дисертационен труд на тема „Рационален дизайн, синтез и *in vitro* изследване на метаболитни модулатори – инхибитори на карнитин ацилтрансферази “ за придобиване на образователната и научна степен „доктор“. Автор на дисертационния труд е ас. Савина Ивайлова Стоянова, редовен докторант към ФХФ на СУ „Св. Климент Охридски“. Представеният от Савина Ивайлова Стоянова комплект документи е в пълно съответствие с изискванията на ЗРАСРБ и правилника за неговото прилагане, както и с правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности във ФХФ на СУ „Св. Климент Охридски“.

2. Актуалност на тематиката

Представеният ми за оценка дисертационен труд е с интердисциплинарна тематика, попадаща в областите на органичния синтез и рационалния лекарствен дизайн. Дисертацията включва теоретично изчислително оценяване на ензим-субстратни взаимодействия (молекулен докинг) и голям обем експериментални изследвания върху получаването на нови хетероциклени гама-бутиробетайни, изокумаринови производни и йонни течности, както и изследване на потенциалното им приложение като карнитин ацетилтрансферазни инхибитори. Синтетичната работа е предшествана и насочвана от предварителен рационален дизайн с помощта на молекулен докинг – актуален подход в лекарствения дизайн. Тематиката е актуална, с потенциално приложение на резултатите в лечението на системни възпалителни процеси, исхемична болест, диабет и някои видове рак.

3. Познаване на проблема

Авторът на дисертационния труд е показал задълбочено познаване на проблематиката в избраната изследователска област. Свидетелство за това е подробния и добре структуриран литературен обзор, който се простира на 43 страници и обхваща 249

източника. Целта на изследването е ясно дефинирана и методологичните решения в постигането на поставените изследователски задачи са умело подбрани и реализирани.

4. Методика на изследването

Целта на представения дисертационен труд е рационален дизайн и синтез на нови съединения с потенциално инхибиращо действие върху ензими от групата на карнитин ацилтрансферазите (САТ). Така дефинираната цел и свързаните с нея изследователски задачи предполагат комбинирано прилагане на методи за молекулен докинг, синтез, спектрално охарактеризиране на нови органични съединения, както и *in vitro* изпитания за търсеното инхибиращо действие. Изброените методи са умело подбрани и реализирани от докторанта в контекста на поставените изследователски задачи.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд е с общ обем от 148 страници. Целите и задачите са добре дефинирани и обосновани в уводна част от три страници, последвана от 43 страници литературен обзор с основен акцент върху карнитин ацилтрансферазите, известните към момента техни инхибитори и механизма на действието им. Направен е сравнителен анализ на карнитин ацилтрансферазните ензими, като са разгледани структурните характеристики на активните им центрове и стабилизиращите взаимодействия, благоприятстващи образуване на ензим-субстратни комплекси. По-малко внимание в литературния обзор е отделено на изокумарините, които са представени кратко, с информация за структурата и биологичното действие на някои техни представители от природен произход. Обзорът завършва с кратко представяне на йонните течности. Собствените изследвания на докторанта са представени в раздел „Резултати и обсъждане“ върху 48 страници. Направен е рационален избор на целеви съединения като потенциални инхибитори на САТ. Целевите съединения са категоризирани в три групи: хетероциклени аналози на гама-бутиробетаин, 3,4-дизаместени 3,4-дихидроизокумарини и йонни течности. За теоретична оценка на тяхната активност е извършен молекулен докинг спрямо два ключови САТ ензима – карнитин ацетилтрансфераза (CrAT) и карнитин палмитоилтрансфераза 2 (CPT2). Докинг резултатите са съпоставени с такива за естествени субстрати или познати инхибитори и е установено, че в редица случаи целевите съединения показват по-ефективно свързване с активния център. За проверка на валидността на докинг модела и установяване на връзката структура-активност са синтезирани, пречистени, изолирани и охарактеризирани 10 хетероциклени аналози на гама-бутиробетаин, 11 диастереомерни двойки изокумаринови производни и 24 йонни течности. Инхибиращата способност на получените съединения е оценена посредством *in vitro* изследвания върху CrAT като моделен ензим. Изследваните съединения от серията на гама-бутиробетаините и йонните течности са проявили инхибираща способност в ниската милимолярна област ($IC_{50} = 0.93-43.6 \text{ mM}$), в някои случаи надвишаваща тази на положителните контроли Мелдониум и MeGBV (с $IC_{50} = 11.4$ и 9.32 mM , съответно). Съединенията от групата на изокумариновите производни са показали инхибиращо действие при още по-ниски концентрации (IC_{50} в интервала $100 \mu\text{M}-1 \text{ mM}$). Получените резултати добре валидират избрания докинг модел и позволяват извеждане на връзки структура-активност за трите серии съединения. Определен е механизмът на инхибиране за най-активните представители сред изследваните съединения. Установено е, че един от гама-бутиробетаините е обратим конкурентен

инхибитор на СтАТ ($K_i = 3.5 \text{ mM}$), сравним с лекарствения препарат Мелдониум ($K_i = 1.63 \text{ mM}$). За изокумариновите производни, както и за най-активния представител на йонните течности, е установено инхибиране от смесен тип със стойности на K_i в границите 0.13-0.77 mM. Получените резултати определят изследваните съединения като добри лекарствени кандидати и дават основание изследванията да бъдат продължени с определяне на тяхната токсичност и бионаличност.

Експерименталната част, съдържаща подробно описани синтетични процедури и спектрални данни, обхваща 38 страници. Всички новосинтезирани съединения са надлежно структурно охарактеризирани с помощта на ЯМР спектроскопия, масспектрометрия и ИЧ спектроскопия. За избрани съединения от изкумариновата серия е проведен конформационен анализ и са установени емпирични зависимости за определяне на конфигурацията на отделните диастереоизомери.

6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Към момента, получените в дисертацията резултати са представени в две публикации в специализирани международни списания с имакт фактор. И в двете публикации докторантът Савина Стоянова е първи автор, което е добра индикация за нейния личен принос.

7. Автореферат

Авторефератът напълно съответства на дисертацията, като представя резултатите и дискусията от дисертационния труд в съкратен вид. Направените изводи и обобщения са в пълно съгласие с описаните в дисертацията резултати.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ФХФ на СУ „Св. Климент Охридски“. Представените материали и резултати покриват специфичните изисквания за придобиване на научната и образователна степен „доктор“ в областта на органичната химия.

Дисертационният труд показва, че докторантът Савина Ивайлова Стоянова притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Органична химия като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от дисертационния труд и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен ‘доктор’ на Савина Ивайлова Стоянова в област на висше образование: „Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.2. „Химически науки“, Научна специалност „Органична химия“.

10.06.2025 г.

Изготвил становището:

Доц. д-р Пламен Ангелов