

СТАНОВИЩЕ
от проф. д-р Огнян Иванов Петров
СУ Св. Климент Охридски, Факултет по химия и фармация

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

Автор: проф. д-р инж. Павлинка Александрова Долашка

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

Представеният от проф. Долашка комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на ИОХЦФ, и отговаря на критериите на ИОХЦФ-БАН за придобиване на научната степен „доктор на науките“. Дисертантът е приложил дисертационен труд, автореферат, 50 публикации, 4 кратки съобщения, 4 патента и 2 полезни модела.

Проф. д-р Павлинка Долашка завършва ВХТИ-Бургас през 1980 г с квалификация инженер-химик. От 1982 г. работи като технолог в Базата за развитие и внедряване към ЕЦХ-БАН. През 1987 г. постъпва в Института по органична химия с център по фитохимия към БАН, където през 1993 г. успешно защитава докторска дисертация. През годините заема последователно длъжностите специалист химик, научен сътрудник II и I степен. През 2003 г. се хабилитира като старши научен сътрудник II степен (доцент), а през 2014 г. придобива академичната длъжност “професор”.

Целта на представения дисертационен труд е изолиране и характеризиране на нови, медни гликопротеини, свързващи различни кислородни форми, определяне на структурата на гликаните и влиянието им върху биологичните свойства на протеините.

Дисертацията е структурирана съгласно стандартните изисквания и съдържа общо 319 страници от които 2 стр. “Увод”, 44 стр. “Литературен обзор”, 21 стр. цели, задачи, материали и методи, 147 стр. “Резултати и дискусия”, 5 стр. изводи и научни приноси и 30 стр. “Литератури източници”. Дисертацията е илюстрирана със 156 фигури и 28 таблици. Разделите от VIII до XI включени в дисертационния труд са приложения, които се повтарят с тези приложени към документите по процедурата и според мен са излишни.

В литературния обзор е направен компетентен анализ относно структурата на известни мед съдържащи гликопротеини и въглехидратните им фрагменти. Специално внимание е отделено на биологичната функция и терапевтичния потенциал на гликопротеините с различен броя медни йони в активния център, различни въглехидратни структури и механизъм на взаимодействие с кислорода и кислородните радикали.

Обект на изследване в дисертационния труд са два вида медни гликопротеини - хемоцианини и супероксид дисмутази, които притежават сложни въглехидратни структури и участват в различни процеси с кислорода и производните му. Целта и задачите на дисертацията са коректно формулирани. В раздела "Резултати и дискусия" са добре структурирани и задълбочено коментирани получените от проф. Долашка резултати. Научните приноси на дисертационния труд са в областта на биоорганичната химия и по-конкретно в областта на химия на протеините. По-важните научни приноси, съдържащи нова и оригинална за науката информация могат да се обобщят като:

- Получаване на нови природно-гликозилирани, реагиращи с кислорода протеини, с един и два меден йон в активния център - ензимите Cu/Zn-СОД-зи, изолирани от гъбични щамове и от дрожди и хемоцианини, изолирани от различни организми от типа Arthropoda и Mollusca. За първи път е представена информация за въглехидратни структури и физико-химични свойства.
- Разработена е високо ефективна методика за определяне и идентифициране на въглехидратната структура на хемоцианини. За първи път е определена пълната въглехидратна структура на хемоцианини от Mollusca - нов важен клас N-гликани за хемоцианините.
- За първи път се съобщава за участие на гликаните при сформирание на третичната структура на хемоцианина и влиянието на въглехидратната структура върху стабилитетните характеристики на интактната молекула, структурните субединици и една функционална единица от RvH.
- Представено е за първи път участието на хемоцианини от тип Mollusca в защитната функция на организма, като осигуряват първоначална защита срещу инфекциозни патогени или изразен инхибиращ ефект на функционални единици срещу репликацията на вируси и туморни клетъчни линии, което ги прави перспективни за включване във фармацевтични продукти.
- Доказана е антитуморната активност на RvH, H1H, H2H и изоформите им върху клетъчни линии T-24 и CAL-29 от рак на пикочния мехур и е предоставена протеомна карта за цитостатичното действие на хемоцианина от *N. lucorum* върху човешката клетъчна линия CAL-29. Изказано е предположение за специфичната роля на олигозахаридните структури на протеините за тяхното биологично действие срещу рак на пикочния мехур.

Останалите научни приноси с потвърдителен, методичен и приложен характер са не по-малко значими и показват впечатляваща методичност и задълбоченост в научната работа на дисертанта.

Публикациите и патентите на проф. Долашка, включени в дисертационния труд, са на изключително високо ниво и предизвикват впечатляващ международен отзвук. Общият ИФ е 96,492, а общия брой цитирания е 527. Резултатите от дисертацията са

докладвани пред 83 научни форума в страната и чужбина и са били финансирани от 21 национални и 22 международни проекти.

Прави добро впечатление, че авторефератът е представен в пълно съответствие с дисертационния труд. Оформен е прецизно и много добре отразява в резюме проведените изследвания и получените резултати. Единствената ми бележка е, че има неточност в цитираната литература, които не съответстват на тези в дисертацията.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни, научно-приложни и 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 Правилника за прилагане на ЗРАСРБ на БАН. Представените материали и дисертационни резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на Правилника на ИОХЦФ-БАН за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че дисертантът проф. П. Долашка притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност “Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества”, като демонстрира качества и умения за провеждане на изследвания с получаване на оригинални и значими научни приноси.

Поради гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка за проведеното изследване, представено в дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и предлагам на почитаемото Научно жури да присъди научната степен “доктор на науките” на проф. д-р инж. Павлинка Александрова Долашка в област на висше образование “Природни науки, математика и информатика”, професионално направление 4.2 “Химически науки” (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества).

София, 29.07.2019 г.

Изготвил становището:

проф. д-р Огнян Петров

O P I N I O N

by Prof. Ognyan Ivanov Petrov, PhD

SU St. Kliment Ohridski, Faculty of Chemistry and Pharmacy

of the dissertation for awarding the degree of Doctor of Science
in higher education "Natural sciences, mathematics and informatics",
professional field 4.2 "Chemical Sciences", scientific specialty "Bioorganic chemistry, chemistry
of natural and physiologically active substances"

Author: Prof. Dr. Pavlinka Alexandrova Dolashka

Topic: Structure and function of copper glycoproteins that bind oxygen species

The set of paper and electronic materials presented by Prof. Dolashka is in accordance with the Rules for the Development of the Academic Staff of IOCHP, and meets the criteria of IOCHP-BAS for obtaining the degree of Doctor of Science. The candidate has presented a dissertation, abstract, 50 publications, 4 short messages, 4 patents and 2 utility models.

Prof. Dr. Pavlinka Dolashka graduated from the Higher Institute of Chemical Technology-Burgas in 1980 with a qualification as a chemical engineer. Between 1982 and 1987 she worked as a technologist at the Development and Implementation Base at ECC-BAS. In 1987 she enrolled at the Institute of Organic Chemistry with Center of Phytochemistry at the Bulgarian Academy of Sciences, where in 1993 successfully defended her doctoral thesis. Over the years, she has been consistently occupying the posts of specialist chemist, research associate II and I. In 2003 she was appointed a Senior Research Associate 2nd degree (Associate Professor), and in 2014 she acquired the academic position Professor.

The purpose of this dissertation is to isolate and characterize new, copper glycoproteins, binding different oxygen forms, to determine the structure of glycans and their influence on the biological properties of proteins.

The dissertation is structured according to the standard requirements and contains a total of 319 pages of which 2 pages are "Introduction", 44 pages "Literature Overview", 21 pages of Objectives, Tasks, Materials and Methods, 147 pages "Results and discussion", 5 pages Conclusions and scientific contributions and 30 pages "References". The dissertation is illustrated with 156 figures and 28 tables. Sections VIII through XI included in the dissertation are annexes that are repeated with those annexed to the procedure documents and in my opinion are redundant.

A competent review of the structure of known copper containing glycoproteins and their carbohydrate fragments has been made in the literature. Particular attention is paid to the

biological function and therapeutic potential of glycoproteins with different number of copper ions in the active center, different carbohydrate structures and mechanism of interaction with oxygen and oxygen radicals.

Subject of the research are two types of copper glycoproteins - hemocyanins and superoxide dismutases, which have complex carbohydrate structures and participate in different processes with oxygen and its derivatives. The purpose and tasks of the dissertation are formulated correctly. The Results and Discussion sections contain a well structured and thorough discussion of the results obtained by Prof. Dolashka. The scientific contributions of the dissertation are in the field of bioorganic chemistry and in particular in the field of protein chemistry. Important scientific contributions containing new and original information for science can be summarized as:

- Production of new naturally-glycosylated, oxygen-responsive proteins with one and two copper ions at the active site - Cu / Zn-SODases isolated from fungal strains and yeast and hemocyanins isolated from various Arthropoda and Mollusca. For the first time, information on carbohydrate structures and physicochemical properties is presented.
- A highly effective methodology for determining and identifying the carbohydrate structure of hemocyanins has been developed. The complete carbohydrate structure of Mollusca hemocyanins, a new important class of N-glycans for hemocyanins, has been determined for the first time.
- For the first time, the involvement of glycans in the formation of the tertiary structure of hemocyanin and the influence of the carbohydrate structure on the stability characteristics of the intact molecule, structural subunits and one functional unit of RvH have been reported.
- For the first time Mollusca type hemocyanins have been shown protective functions, providing initial protection against infectious pathogens or a pronounced inhibitory effect of functional units against the replication of viruses and tumor cell lines, making them promising substances for incorporation into pharmaceutical products .
- The antitumor activity of RvH, HIH, HaH and their isoforms on T-24 and CAL-29 cell lines from bladder cancer has been demonstrated and a proteomic map for the cytostatic action of H. lucorum hemocyanin on the human CAL-29 cell line has been provided. The specific role of oligosaccharide structures of proteins for their biological action against bladder cancer has been suggested.

The other scientific contributions of confirmatory, methodical and applied character are no less significant and show impressive systematical and thorough approach in the scientific work of the candidate.

Prof. Dolashka's publications and patents included in the dissertation work are of a very high standard and produce an impressive international response. The total IF is 96.492 and the total number of citations is 527. The results of the dissertation have been reported to 83

scientific forums in the country and abroad and have been funded by 21 national and 22 international projects.

It makes a good impression that the abstract is presented in full accordance with the dissertation. It is precise and the summary reflects accurately the conducted studies and the results obtained. My only comment is that there are inaccuracies in the citations that do not match those in the thesis.

CONCLUSION

The dissertation contains fundamental and applied results, which make an original contribution to the science and meet all the requirements of the Law for the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria (LDASRB). The submitted materials and the dissertation results fully comply with the specific requirements of the IOCCP-BAS Regulations for the application of the LDASRB.

The dissertation shows that the candidate, Professor P. Dolashka possesses deep theoretical knowledge and professional skills in the scientific specialty "Bioorganic chemistry, chemistry of natural and physiologically active substances", demonstrating qualities and skills for conducting research with obtaining original and significant scientific offerings.

Because of the above, I am convinced of my positive assessment of the research, presented in the dissertation, abstract, achieved results and contributions, and propose to the Honorable Scientific Jury to award the scientific degree "Doctor of Science" to Prof. Dr. Pavlinka Alexandrova Dolashka in the field of higher education "Natural sciences, mathematics and informatics", professional field 4.2 "Chemical sciences" (Bioorganic chemistry, chemistry of natural and physiologically active substances).

Sofia, 29.07.2019

Signature:

Prof. Dr. Ognyan Petrov