

СТАНОВИЩЕ

ОТ

Проф. Ана Иванова Манева, дбн

Катедра по „Биохимия“ при МУ-Пловдив

Със заповед №Р33-2140/2019 г. от Ректора на ПУ „Паисий Хилендарски“ и решение на ФС на Биологическия факултет, протокол № 244/16.04.2019 г. съм утвърдена за член на научно жури за защита на дисертационен труд на тема **„Дитерпени от *Scutellaria galericulata* и биологичната им активност“** за придобиване на научно-образователната степен „доктор“ от Катя Христова Николова-Маламова към катедра по „Биохимия и микробиология“, Биологически факултет – ПУ „Паисий Хилендарски“ по професионално направление на област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3 Биологични науки; научна специалност биохимия.

Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен /електронен носител от Катя Христова Николова-Маламова е в съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в ПУ – Пловдив и включва: молба до ректора по образец за откриване на процедура, протокол от катедрен съвет за предварително обсъждане на дисертационния труд и взетите решения за разкриване на процедура и за състав на научно жури, заповед №Р33-2140/2019 г. от Ректора на ПУ „Паисий Хилендарски“ за утвърждаване на научното жури, автобиография европейски формат, диплома за образователно-квалификационна степен „магистър“, заповеди за записване в докторантура, прекъсване на обучението (поради майчинство) и за продължаване на обучението; за отчисляване с право на защита, заповед за провеждане на изпит от индивидуалния план и съответен протокол за издържан изпит или докторантски минимум по специалността, дисертационен труд, автореферат, списък на научните публикации по темата на дисертацията, списък на участията в научни форуми, списък на забелязани цитирания, декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи, други документи, свързани с хода на процедурата.

Катя Христова Николова-Маламова е придобила степен бакалавър в ПУ-П.Хилендарски (2008-2012 година). със специалност компютърна химия и учител по химия на учиници от 5-12 клас. По проект „Студентски практики“ през 2012-2014 година е прекарала обучение като стажант-химик в СУ-Кл.Охридски, Факултет по химия и фармация, Катедра Фармацевтична и приложна органична химия и след защита на дипломна работа е придобила квалификация „магистър по медицинска химия“. През 2012-2013 г. се включва като стажант към секция „Структура и функция на хроматина“ при ИМБ-БАН и е включена по същото време в изследователски проект, на същото

звено, свързан с промени в клетъчната регулация при канцерогенезата. Докторантката е придобила професионален опит като хонорован асистент по биоорганична химия към катедрата по биохимия и микробиология, ПУ-П.Хилендарски през 2012 година и като хонорован асистент по химия в Технически университет –София, филиал Пловдив от 2016-2018. Приложила е дипломи, награди, и публикации, които свидетелстват за добри компютърни умения, владее на чужди езици и системна работа за ориентация към изработване на дисертационен труд в избраната област на висше образование.

Описание на дисертационния труд

Представеният труд е написан на 183 стр. Структурата му включва: Въведение – 2 стр.; Литературен обзор – 27 стр.; Цел и задачи- 1 стр.; Експериментална част с описание на използваните методи – 9 стр.; Резултати и обсъждане- 44 стр.; Изводи – 2 стр.; Литература – 151 източника.

Резултатите са онагледени с 10 таблици и 35 фигури. Представен е списък собствени научни публикации (4) и участия в международни (3) и национални научни форуми (1). Забелязани са 3 цитирания. От публикациите докторантката е първи автор.

Към дисертационния труд има 3 приложения: 1) илюстриращи структури на изследваните нео-клероданови съединения от рода *Scutellaria*; 2) представящи доказателствен материал за определяне структурата и стереохимията на скуталтисин В, скутегалерин С, D и Е; 3) експериментални резултати на програмата Graphpad Prism от цитотоксична активност на съединенията.

Обща преценка за актуалността на дисертационния труд

Дисертационния труд е посветен на изолиране, пречистване, изследване на структурата и биологичната активност на неоклероданови дитерпени, изолирани от растението *Scutellaria galericulata*. Дитерпените са C₂₀ съединения, изградени от 4 изопренови единици (C₅H₈) и могат да бъдат намерени в растения, гъби, бактерии и животни. Биохимично-активните изопренови единици, изопентинил пирофосфат и диметилалил пирофосфат могат да бъдат образувани от мевалонат и деоксисилулозофосфатния пътища като последният е по-застъпен. Дитерпените се получават от геранил пирофосфат, който е продукт на свързване на изопентинил пирофосфат към фарнезил пирофосфат. Циклизирането на геранил пирофосфат до дитерпени се осъществява чрез 4 различни стереохимични превръщания, стартиращи от 4 различни конформационни състояния. Прегледът на литературата по въпроса показва, че са актуални проучванията върху възможни източници на дитерпени, подходите за получаването и пречистването им, изследване връзката между структура и функция, както и тестирането им като биологично-активни продукти с потенциално приложение в медицината и селското стопанство. Дитерпените имат доказани ефекти на цитотоксичност спрямо туморни клетъчни линии, антиоксидантна активност и противовъзпалителна активност, антифидантна активност, противовирусна и антибактериална активност. Катедрата има предшестваша проучвания върху антифидантната активност на *Scutellaria galericulata* и представени експериментални доказателства за значението на определени химични

връзки и групи в нео-клеродановите дитерпеноиди за проява на биологичната активност. Дипломната работа на докторантката и настоящата дисертация разширяват проучванията като поставената цел е да се потърсят нови нео-клероданови антифиданти и цитотоксични съединения в *Scutellaria galericulata*.

Литературен обзор – Отговаря на поставената цел и задачи на труда и е посветен на характеристика на състава, строежа и класификацията на терпените, биосинтеза на нео-клеродановите дитерпеноиди. Коментирани са заслугите на български учени за изолирането и изясняването на структурата на тези съединения от *Scutellaria galericulata*, събрана от различни области в България. В отделен раздел са обобщени постиженията в областта от чужди учени, които изолират нео-клеродановите дитерпеноиди от други места по света. Отразени са техниките, използвани при подобни изследвания. Посочена е причината за интереса към тези съединения - тяхната разнообразната биологична активност с приложение в медицината и селското стопанство. Литературният списък е изчерпателен като включва научни статии, монографии, публикации в сборници като 5 от тези публикации са на български език.

Цел и задачи – Целта е конкретна и отразява намеренията на дисертацията, а задачите конкретизират отделните стъпки за постигане на целта.

Методи - Използвани са: 1) стандартизирани методи за изолиране и разделяне на биологично активни вещества чрез получаване на горчива фракция от биологично-активни вещества и тяхното разделяне чрез *хроматографски методи* – тънкослойна хроматография (ТСХ), колонна хроматография (КХ) препаративна тънкослойна хроматография (ПТСХ). 2) *спектрални методи* за определяне структурата и стереохимията на изолираните съединения: инфрачервена спектроскопия (ИЧС), Мас-спектроскопия (МС), спектроскопия на ядрено-магнитен резонанс (ЯМР), протонна спектроскопия на ядрено-магнитен резонанс (^1H -ЯМР), въглерод тринадесет ядрено-магнитен резонанс (^{13}C -ЯМР); 3) *Биологични активности* – антифидантна активност и антитуморна и цитотоксична активност. Описанието на методите е коректно и изчерпателно. Изследванията са провеждани във Биологическия и химична факултет на ПУ-Паисий Хилендарски. Използваните методи са високо-чувствителни и надеждни.

Резултати и дискусия - Докторантката е избрала едновременно представяне на резултатите и коментар върху тях. Този избор вероятно е за да бъдат представени ясно получените данни за по-широк кръг специалисти, тъй като дисертационният проект е мултидисциплинарен. Чрез хроматографски методи тя е успяла да изолира, а спектрално да охарактеризира шест нео-клероданови дитерпеноиди, 5 от които са индивидуализирани за първи път. Друга заслуга на труда са резултати от проучванията върху стереохимията на тези съединения. Получените резултати показват, че биологичната активност на изолираните нео-клероданови дитерпеноиди зависи от различни структурни фрагменти на съединенията, като най-активните антифиданти имат фурофуранова С-11-С-16 подструктура в основния клероданов скелет, докато нео-клероданите, проявяващи цитотоксичност имат в С-11-С-16 подструктурата 13-спиро- α -ненаситен- γ -лактон. Заместването на естерните групи С1, С3, С7 и С19 в декалиновия

пръстен на нео-клероданите с ОН- или СН₂ОН- групи води до намаляване на антифидантната активност.

Изводи и приноси- От направеното проучване са изведени 6 извода въз основа на получените данни от структурните изследвания и биологичните тестове. Изброени са 5 оригинални и 3 извода с потвърдителен характер. Изводите и приносите напълно отговарят на получените резултати.

Научни публикации във връзка с дисертацията – Докторантката е представила 4 публикации в реферирани списания, едното с импакт фактор като в две от тях е първи автор. Тя има участие в 3 международни и 1 национален форуми. За две от статиите са забелязани три цитирания. Публикационната активност отговаря на изискванията

Заключение: Дисертационният труд убедително показва, че Катя Христова Николова-Маламова е придобила значителен обем от знания и набор от умения да провежда научни експерименти и да анализира получените резултати, което е и целта на обучението за научно-образователната степен „доктор“. Представената дисертационна работа заслужава висока оценка, тъй като представя оригинални нови научни данни с потенциалната възможност те да бъдат приложени в областта на медицината и селското стопанство. Също така тя оформя нови насоки на бъдеща работа – проучване на други важни биологични активности, напр. антиоксидантна, както и възможности за изследване биотрансформацията на новите неоклеродани в подходящи експериментални модели за да се преценят точно възможностите им за евентуално практическо приложение.

Проф. Ана Манева, дб, дбн,
Ръководител на катедра по биохимия,
Медицински Университет – Пловдив.