

СТАНОВИЩЕ

от Д-р Петко Иванов Бозов – доцент в Пловдивски Университет „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 4.3. Биологически науки, докторска програма Биохимиял

Автор: Катя Христова Николова-Маламова

Тема: „Дитерпени от *Scutellaria galericulata* и биологичната им активност“

Научен ръководител: доц. д-р Петко Иванов Бозов - ПУ „Паисий Хилендарски“

Със заповед № Р33-2140 от 30. 05. 2019 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определен за член на научното жури относно процедура за защита на дисертационен труд на тема „Дитерпени от *Scutellaria galericulata* и биологичната им активност“ за придобиване на образователната и научна степен ‘доктор’ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма Биохимия. Автор на дисертационния труд е Катя Христова Николова-Маламова– докторантка в редовна форма на обучение към катедра Биохимия и микробиология с научен ръководител доц. д-р Петко Иванов Бозов от Пловдивски Университет „Паисий Хилендарски“.

Представеният от Катя Христова Николова-Маламова комплект материали на електронен носител е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ. Към приложенията са включени дисертационен труд, автореферат, 4 публикации (3 с импакт фактор и една цитирана в списание с импакт фактор), списък на забелязани 3 цитирания на публикации свързани с дисертационния труд (списъкът е приложен в края на дисертационния труд и в автореферата), 4 броя сертификати за участие в научни конференции с материали от дисертационния труд.

Докторантката придобива ОКС ‘магистър’ през лятото на 2014 г след курс на обучение в магистърска програма „Медицинска химия“ в Софийски университет „Климент Охридски“, Факултет по Химия и фармация, Катедра Фармацевтична и приложна органична химия и защита на дипломна работа на тема „Фитохимично

изследване на *scutellaria galericulata* за наличие на дитерпеноиди и изследване на някои техни биологични активности“ с ръководител гл. ас. д-р Бозов.

Дисертационният е продължение на изучаването на *Scutellaria galericulata* с цел изолиране и пречистване на минорни *нео*-клероданови дитерпени, доказване структурата и стереохимията им и тестване на някои биологични свойства на *нео*-клеродани, изолирани от представители на род *Scutellaria*. Изследване на взаимовръзката структура-активност и установяване на значими структурни фрагменти обуславящи по-силно антифидантно действие. Получените резултати показват възможността за използване на природни, биодegradими вещества със слабо влияние върху околната среда, като алтернатива или съвместно с химическите синтетични инсектициди, които са трудно разградими и се натрупват в почвата и в живите организми, за контрол на популацията на Колорадския бръмбар.

Докторантката е направила изчерпателна литературна справка върху съдържанието на *нео*-клероданови дитерпеноиди във видовете на род *Scutellaria* от семейство Lamiaceae. Направените обобщения на скелетите на съединенията, различните заместители, биологичните активности и връзката на структурата на клероданите с проявяваните биологични свойства, показват вникване в същността на проблематиката, разбиране и точно оценяване на постигнатите резултати по темата от други колективи, задълбочено осмисляне на поставените цели и задачи и правилно избиране на материалите и методите за постигането им.

Докторантката използва утвърдени класически методи за изолиране на биологичноактивни вещества и за разделянето им до чисти субстанции. За идентифициране на съединенията са използвани съвременни физични методи за органичен анализ: Инфрачервена спектроскопия, Мас-спектрометрия с висока резолюция, 1D и 2D ЯМР експерименти. Николова-Маламова установява структурата и стереохимията на *нео*-клероданите чрез интерпретиране и съпоставяне на всички регистрирани спектрални данни. Първоначално след внимателен анализ на характеристичните сигнали определя основния скелет на съединенията, наличните функционални групи и потенциално възможните им места в молекулата. С помощта на двумерните ЯМР спектри се отнасят сигналите за всички ^1H и ^{13}C атоми. След съставянето на структурната формула докторантката определя абсолютната стереохимия на всички хирални центрове в молекулата чрез анализ на свързващите константи, резултатите от NOESY взаимодействията и сравнение с данните на вещества с доказана абсолютна стереохимия. Накрая Николова-Маламова тества избрани *нео*-клероданови дитерпени за

проявяване на биологична активност и анализира получените резултати за установяване на взаимовръзката структура-активност.

Николова-Маламова е изолирала и пречистила 6 *нео*-клероданови детерпена. Пет от тях са нови за науката съединения: скутегалерини С-Г. Шестото вещество, скуталтисин В е нов дитерпен за вида *S. galericulata*. Извършен е цялостен спектрален анализ на веществата. Отнесени са всички сигнали в ^1H и ^{13}C ЯМР спектрите, чрез внимателно им интерпретиране с помощта на 2D експерименти. Четири от изолираните дитерпеноида образуват две епимерни двойки *нео*-клеродани. Докторантката отнася еднозначно и недвусмислено дублираните сигнали, в ^1H и ^{13}C ЯМР спектрите, за всеки енантиомер от епимерните смеси, което е било улеснено от факта, че количеството на компонентите на смесите е в съотношение 1:2 и респективно 2:3. Скуталтисин В, изолиран по-рано като епимерна смес 1:1 със скуталтисин С, е получен в това изследване в индивидуално състояние. Еднозначно са отнесени всички сигнали във ^{13}C -ЯМР спектъра на скуталтисин В, като са корегирани стойностите за атомите С-7, С-9 и С-12.

Тествана е антифидантната активност на единадесет *нео*-клеродан дитерпеноида изолирани, от *S. galericulata* срещу ларви на Колорадски бръмбар. Установена е активност на *нео*-аюгапирин А и скутегалерин А близка с тази на известния мощен антифидант 14,15-дихидродрождрелин Т.

Потвърдена е хипотезата на японските изследователи Кojima и Kato, че присъствието в клеродановата структура на спиро епоксид при С-4 и две естерни групи при С-6 и С-19, заедно с хексахидро- или тетрахидрофуорофуранов пръстен при С-9, са предпоставка за силна антифидантна активност.

Дванадесет *нео*-клероданови дитерпеноида, изолирани от представители на род *Scutellaria*, са тествани за цитотоксичната активност срещу две клетъчни линии: човешки тумори по белите дробове, означени като H1299 и нормални клетки от пъпна връв (HUVES). Най-активният скуталпин А с IC_{50} - 21.35 и съответно 23.9 μM , проявява по-силно действие от докладваната в литературата за изолираните от *Scutellaria coleifolia* *нео*-клеродани със същия въглероден скелет, чието действие е с IC_{50} от 36.2 до 82.5 $\mu\text{g/mL}$.

Докторантката е първи автор в две от статиите, в една е втори и в една е трети автор, което показва активното ѝ участие в научното изследване и в получените резултати.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При разработване на дисертационния труд Катя Христова Николова-Маламова е усвоила знания и умения да намира и анализира научна литература, да формулира научен проблем, задачи и цели и да подбира подходящите и правилни методи за тяхното постигане. Придобила е задълбочени познания в областта на химията на терпените, владее, прилага и интерпретира

съвременните физични методи за органичен анализ, идентифицира и изяснява структурата и стереохимията на клеродановите дитерпени, успешно тества биологични активности на веществата. Цялостната ми оценка на дисертационния труд, основаваща се на неговата иновативност, структура, съдържание и теоретични обобщения, е че 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 съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“. Представените материали и дисертационни резултати напълно съответстват на специфичните наукометрични изисквания на Биологически Факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ Паисий Хилендарски” за приложение на ЗРАСРБ за получаване на образователната и научна степен „доктор“.

Въз основа на направения анализ убедено давам своята положителна оценка на разработения дисертационен труд и предлагам на почитаемото научно жури да присъди на Катя Христова Николова-Маламова образователната и научна степен „доктор“ в научна област 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма Биохимия.

18.06.2019 г.

Изготвил становището:.....

доц. д-р Петко Бозов