

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Илия Николов Илиев,

катедра „Биохимия и микробиология“ при ПУ „Паисий Хилендарски“ – Пловдив

Относно: дисертационен труд на тема **„ДИТЕРПЕНИ ОТ SCUTELARIA GALARICULATA И БИОЛОГИЧНАТА ИМ АКТИВНОСТ“** представен от докторант **КАТЯ ХРИСТОВА НИКОЛОВА - МАЛАМОВА** от КАТЕДРА „БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ“ НА БИОЛОГИЧЕСКИ ФАКУЛТЕТ ПРИ ПУ „ПАИСИЙ ХИЛЕНДАРСКИ“ за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“ по професионално направление 4. Природни науки, математика и информатика, 4.3. Биологически науки, Докторска програма „Биохимия“.

Получени материали: Дисертация, автореферат, списък с публикации по дисертацията, папка с материали по дисертацията.

Със заповед № РЗЗ-2140/03.05.2019г. на Ректора на ПУ „Паисий Хилендарски“ съм определен за член на научно жури за защита на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ от докторант **КАТЯ ХРИСТОВА НИКОЛОВА - МАЛАМОВА** на тема **„ДИТЕРПЕНИ ОТ SCUTELARIA GALARICULATA И БИОЛОГИЧНАТА ИМ АКТИВНОСТ“**. Дисертационният труд е разработен в катедра „Биохимия и микробиология“ на ПУ „Паисий Хилендарски“. Част от изследванията са направени в ИОХЦФ-БАН.

Катя Христова е завършила с отличен успех Химически факултет на ПУ „Паисий Хилендарски“ през 2012г., специалност „Компютърна химия“. В периода 2012 – 2014 завършва магистратура „Медицинска химия“ в СУ „Св. Климент Охридски“. Със заповед РЗЗ-711/11.02.2016 Катя Николова е зачислена за редовен докторант в катедра „Биохимия и микробиология“ на ПУ „Паисий Хилендарски“ с научен ръководител доцент д-р Петко Бозов. В периода 2016-2019г. е редовен докторант и е отчислена с право на защита със заповед на Ректора на ПУ „Паисий Хилендарски“ РЗЗ-1170/11.03.2019г.

Дисертационния труд е обсъден и одобрен за разкриване на процедура за защита пред КС на Катедра „Биохимия и микробиология“ на 05.04.2019г. с протокол № 165/05.04.2019г. Дисертацията е оформена по приет за България модел и е написана на 183 стандартни машинописни страници и съдържа следните основни глави: Използвани съкращения – 2 стр., Съдържание – 2 стр., Въведение – 2 стр., Литературен обзор – 27 стр., Цел и задачи – 1 стр., Експериментална част – 18 стр., Резултати и обсъждане – 44 стр., Обобщение – 10 стр., Изводи– 1стр., Приноси – 2 стр., Декларация – 1 стр., Литература – 16 стр., Приложения – 70 стр. Литературният обзор е онагледен с 2 таблици, 1 схема и 1 фигура, а експерименталната част с 9 таблици и 34 фигури. Библиографската справка обхваща 151 литературни източника, от които 5 на кирилица. Прави впечатление, че докторантката е цитирала български изследователи, работили по темата, което е потвърждение за приемственост в разработваната научна тематика.

1. Актуалност на разработвания в дисертацията проблем в научно и научно-приложно отношение

България е един от лидерите в Европа и основен износител на дроги от медицински растения и етерични масла от етерично-маслени култури. Повече от 250 медицински растения от 200 растителни вида, повечето от които диворастящи са обект на производствени програми. Растения от семействата на Asteraceae, Lamiaceae, Rosaceae, Fabaceae, Apiaceae, etc., са обект на продължаващи научни изследвания за получаване на природни биологично-активни вещества.

Обект на настоящото изследване са видове от род *Scutellaria*, обединяващи около 360 вида, а в България се срещат осем от тях. Проведените до момента фармакологични изследвания показват потенциала на екстракти от *Scutellaria* като противитуморни, хепатопротекторни, противовъзпалителни и антиоксидантни средства.

Темата за терпените и нео-клеродановите дитерпени в частност е актуална и днес, защото тя предполага търсене на отговор както на строго фундаментални научни въпроси за структурата и свойствата им, така и за техния потенциал за приложение в медицината и фармацията след изолиране, пречистване и модификация на структурата им. Всичко това подкрепя тезата на докторантката за актуалността на тематиката и необходимостта от допълнителни изследвания. Докторант Николова е избрала да се занимава с изучаване на структурата и

свойствата на нео-клероданови дитерпеноиди от наземните части на *Scutellaria galericulata*, като е потърсила връзка между структурата и биологичната им активност.

2. Степен на познаване на състоянието на проблема и на литературата

Актуалността на темата е осъзната от докторант Катя Николова, което личи както от добре структурирания обзор, така и от акцентите на проведената от нея експериментална работа. Литературния обзор е тематичен по проблемите на дисертацията, обхваща обща информация за род *Scutellaria*, относно структурата и класификацията на терпените, както и специфична информация за дитерпеноидите от род *Scutellaria*. Особено внимание е отделено за нео-клероданите, както относно структурата им, така и за биологичната им функция. Литературният обзор дава възможност на докторантката да диференцира информацията и да отбележи необходимостта от допълнителни изследвания на нео-клероданите.

Целта на дисертацията е дефинирана в две направления - разделяне и пречистване на минорни нео-клеродани от *Scutellaria galericulata*, и да се тестват някои биологични свойства – антифидантна, антитуморна и цитотоксична активност на получените нео-клеродани. Би могло да се направи още по-точно формулиране на целта, като се изведе на преден план корелацията между структурата и биологичната функция на новите структури нео-клеродани през призмата на бъдещо приложение. Формулирани са общо четири задачи, които са описани общо и следват логиката на планиране на експеримента за доказване тезата на авторката.

3. Съответствие на избраната методика на изследване с поставената цел и задачи на дисертационния труд

В раздел „Експериментална част” са описани прецизно основните методи, които са прилагани при изпълнението на поставените задачи в дисертацията. По време на разработването на дисертационния труд докторант Николова е използвала и усвоила широка гама химични; хроматографски, спектрални методи - мас-спектрални, инфрачервена спектроскопия и ЯМР методи за пречистване и определяне структурата на минорните нео-клеродани, както и някои методи за определяне на антифидантна антитуморна и цитотоксична активност. Това е основание да се счита че е придобила необходимия методичен опит при извеждане на научен експеримент.

Цялата изследователска програма в дисертацията е построена на базата на предварително избран растителен вид *Scutellaria galericulata*, от който се изолират

минорни нео-клеродани. По своята същност методичната работа по дисертацията следва едно стандартно изследване на структурата на нео-клеродани, след тяхното изолиране и хроматографско пречистване и провеждане на биологични изследвания за доказване на антифидантна, антитуморна и цитотоксична активност. Методологията на изследването логично завършва с предложение за схема за получаване на нео-клеродни. Към този раздел имам следните забележки: описанието на методите за изследване на биологичната активност е много общо, без конкретни параметри на експеримента и цитиране на авторите на методите, което затруднява бъдещо повторение на експеримента от други научни колективи с цел съпоставяне на резултатите.

4. Характеристика на естеството и оценка на достоверността на материала

Своята изследователска работа докторантката стартира с извличане на нео-клероданови дитерпеноиди, хроматографско пречистване през колона със силикагел и рехроматографиране на ТСХ при същите условия. В следващите изследвания докторантката доказва структурата на изолираните съединения, използвайки различни спектрални техники и методи. След определяне на структурата на изолираните нео-клеродани авторката е провела някои първоначални биологични изследвания за определяне на биологичната им активност. Антифидантната активност е изследвана върху новоизлюпени ларви в четвърти стадий на колорадски бръмбър. Тук бих искал да отбележа, че не е коректно описан обекта и субекта на изследване и метода за анализ. Няма данни за статистическата обработка на резултатите, както и брой проведени експерименти и повторения при голям брой различни концентрации, което може да причисли получените резултати към индикативни такива. Цитотоксичната активност е изследвана на 12 природни нео-клероданови дитерпени изолирани от три вида skutelaria. Един от тях е обект на настоящата дисертация и е описан надлежно, но за останалите два вида няма информация нито в раздел „Експериментална част“, нито в раздел „Резултати и обсъждане“ относно техните структури, а само са цитирани предишни изследвания. Според мен е коректно да се опишат и цитират получените съединения още в раздел „Експериментална част“, след като се използват в настоящото изследване. В резултатите не е коментирана антитуморната активност на изследваните нео-клеродани, а от данните в таблица 10 се вижда, че няма разлика за стойностите на IC50 при туморната и нормалната

клетъчни линии. Според мен би било добре да се направи по-задълбочен анализ на получените резултати с оглед на перспективността при бъдещи научни изследвания.

В резултат на проведеното изследване докторант Николова е формулирала 6 извода. Изводи от 1 до 5 приемам по принцип, но извод 6 считам за некоректен поради ограничените експерименти и липсата на ясни методични подробности.

5. Приноси на дисертационния труд

Докторант Катя Николова е формулирала пет оригинални и 3 с потвърдителен характер приноси. Към посочените 5 оригинални приноса имам следния коментар:

Приноси 2 и 3 приемам безрезервно, принос едно приемам по принцип поради неговия общ характер, приноси 4 и 5 приемам като индикативни поради проведените ограничени изследвания. Според мен е доказана еднозначно цитотоксичната активност на изследваните съединения, което поставя под съмнение необходимостта от изследване на антитуморната активност на така получените вещества. Може би след допълнителна модификация на техните структури може да се продължи изследването на антитуморната активност само за съединения, които нямат цитотоксична активност към нормални човешки клетки.

6. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Резултатите от дисертацията са публикувани в четири научни публикации, три от тях в научни списания с импакт фактор и една в реферирано списание. Общият импакт фактор на тези три статии е 2,06, което е сериозно постижение за докторант Катя Николова и недвусмислено показва нивото на проведените изследвания. В две от статиите докторантката е на първо място, което потвърждава нейното водещо участие в изработването на експерименталната работа и обработването на резултатите по дисертацията.

Авторефератът отговаря на целите, задачите и постигнатите резултати в дисертационния труд.

Докторант Катя Николова докладва резултатите от дисертацията на 4 научни форума, а две от статиите са цитирани общо 3 пъти.

7. Мнения, препоръки и бележки

Към докторантката имам следните въпроси:

1. Как ще обясните получените данни за цитотоксична активност на скутеколумнин С, скутегалин D, скуталтисин G и скуполин H в сравнение с данните за контролата (вода) ?
2. Има ли данни за чистотата на използваните съединения за цитотоксична активност?
3. Има ли данни за чистотата на изследваните нео-клеродани, които са използвани при останалите биологичните експерименти?

Към докторантката имам следните препоръки:

1. В раздела „Резултати и дискусия“ некоректно е описано мястото на проведеня анализ за цитотоксичност (БАН-София на стр. 85).
2. Препоръчвам в бъдещи изследвания да се описват коректно методите, по които се провеждат биологичните експерименти, както и да се представя коректен анализ на получените резултати.
3. Препоръките, добронамерено направени в предхождащи обсъждания да се вземат предвид или да се обосноват ако не се приемат.

8. Заключение:

Оценката ми за дисертационния труд, автореферата, научните публикации и научните приноси на докторант Катя Николова е положителна. Въпреки направените препоръки, бих искал да отбележа достойнствата – на първо място една научно обоснована и изпълнена научна разработка, с оригинални изследователски подходи, съдържаща правилно интерпретирани и обобщени резултати. Експерименталната работа покрива изискуемия стандарт за този тип дисертации. Дисертационния труд има подчертани научни и научно-приложни приноси, които биха могли да намерят приложение при бъдещи приложни проекти.

Представената дисертация отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото прилагане. Постигнатите резултати ми дават основание да предложа да бъде присъдена образователна и научна степен „доктор” на **КАТЯ ХРИСТОВА НИКОЛОВА - МАЛАМОВА** по професионално направление 4. Природни науки, математика и информатика, 4.3. Биологически науки, Докторска програма „Биохимия“.

17.06.2019г.

Изготвил:

Пловдив

(проф. д-р Илия Илиев)