

РЕЦЕНЗИЯ

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

на дисертационен труд за присъждане на научна степен '**доктор на науките**' в област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.2. „Химически науки“ (Органична химия)

Автор: доц. д-р Петко Иванов Бозов

Тема: Клероданови дитерпеноиди от видове на семейство *Lamiaceae*

1. Общо описание на представените материали

Със заповед на Ректора на ПУ „Паисий Хилендарски“ № Р33-902/11.03.2021 съм определен за член на научното жури в процедура за защита на дисертационен труд на тема „Клероданови дитерпеноиди от видове на семейство *Lamiaceae*“ за придобиване на научната степен '**доктор на науките**' в област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.2. „Химически науки“ (Органична химия). Автор на дисертационния труд е д-р Петко Иванов Бозов, доцент в катедра „Биохимия и микробиология“ на Биологическия факултет към ПУ „Паисий Хилендарски“. Представеният от Петко Бозов комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на ПУ „Паисий Хилендарски“, и отговаря на критериите на ЗРАСРБ за придобиване на научната степен „доктор на науките“. Комплектът съдържа:

- 1.1. Молба до ректора
- 1.2. Автобиография
- 1.3. Протокол от КС
- 1.4. Автореферат (на български и на английски език)
- 1.5. Списък на научите трудове
- 1.6. Дисертация
- 1.7. Справка за минимални научни изисквания
- 1.8. Копия от публикациите

2. Биографични данни

Петко Бозов е роден през 1962 г. През 1986 г. завършва висшето си образование в Химическия факултет на ПУ „Паисий Хилендарски“. В същия факултет започва научноизследователската си работа като редовен аспирант през 1989 г. През 1994 г. защитава дисертация за научната и образователна степен „доктор“ на тема „Ди- и тритерпеноиди в представители от семейство *Lamiaceae* и биологичната им активност“. От 1993 г. до 2010 г. работи като учител по химия в различни училища, с изключение на периода 1998 – 2003 г., когато работи за фирма, търгуваща с лекарства. Паралелно с това от 1994 г. до 2011 г. е бил и хоноруван преподавател по обща и органична химия в Медицински университет – Пловдив. През 2010 г. постъпва на работа като асистент в ПУ „Паисий Хилендарски“, а през 2015 г. се хабилитира като доцент в същия университет – позиция, която заема и сега.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените задачи

Представеният дисертационен труд е в областта на органичната химия и фитохимията. Цел на дисертацията е изолиране на клероданови дитерпеноиди от видове на род *Scutellaria*, *Teucrium* и *Salvia*; изучаване на строежа, стереохимичните характеристики и антифидантната активност на съединенията, както и тестване на цитотоксичното и антимикробно действие на избрани дитерпеноиди. Добивът от растителни източници на биологично активни вещества и суровини за финия органичен синтез е сред важните стратегии за зелена и устойчива икономика. Научните изследвания върху нови биологично активни вещества и растителни източници за тяхното получаване заемат ключово място в реализацията на такива стратегии. Предвид това, целта на дисертацията е актуална и с голяма значимост. Поставените задачи напълно съответстват на целта на дисертацията.

4. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд е изложен на 186 страници (вкл. заглавна, съдържание и списък на съкращенията) и е структуриран в следните основни раздели:

- Въведение (3 стр.)
- Литературен обзор (32стр)
- Цели и задачи (1 стр.)
- Материали и методи (13 стр.)
- Резултати и обсъждане (112 стр.)
- Изводи и приноси (6 стр.)
- Списък на цитираната литература (16 стр.)

Дисертацията се допълва от 92 страници приложения, съдържащи ИЧ и ЯМР спектри на изследваните съединения, както и от 14 страници включващи декларация за оригиналност и достоверност, и списък на публикациите и цитиранията.

Уводната част и добре структурираният литературен обзор, обхващащ 276 източника, показват задълбочено познаване на изследователския проблем и избраната тематика. Целта (описана в предходната точка) е ясно дефинирана, а изброените задачи за постигането ѝ са уместни и правилно поставени.

В раздел „Материали и методи“ е подробно описан видът и произходът на използваните растителни материали, както и методите за изолиране на клероданови дитерпени и извличане на етерични масла. Предоставена е информация за вида и техническите характеристики на използваната спектроскопска апаратура и е направено базово описание на спектралните методи прилагани в дисертацията. Впечатление прави приложението на прецизна апаратура от висок клас при най-важните инструментални методи – ядрен магнитен резонанс, масспектрометрия и инфрачервена спектроскопия. Описани са използваните методи за биологични изпитания за антифидантна, антимикробна и цитотоксична активност.

В собствените изследвания на дисертанта, обособени като раздел „Резултати и обсъждане“, най-голям е дялът посветен на определяне на структурата и конфигурацията на биологично активни терпеноиди, изолирани от видове на род *Scutellaria*, *Teucrium* и *Salvia*. Ключово място в тези изследвания заема интерпретацията на ядрено-магнитните спектри на изследваните съединения. Приложен е широк набор от съвременни техники на ядрения магнитен резонанс, подкрепени с данни от други инструментални методи, като инфрачервена спектроскопия и масспектрометрия с електроспрей йонизация и висока разделителна способност.

При изследване на ацетоновия екстракт, получен от надземните части на *Scutellaria orientalis subsp. pinnatifida* са доказани познатите нео-клероданови дитерпеноиди, скуториенталин В и скуториенталин D, заедно с един нов нео-клеродан, скуториенталин Е, чиято структура, 7 β ,19-диацетокси-6 α -(Е)-цинамоилокси-4 α ,18-епокси-8 β -хидрокси-нео-клерода-13-ен-15,16-олид, е установена чрез спектрални изследвания и сравняване на данните с родствени съединения. От *Scutellaria altissima* са изолирани и спектрално охарактеризирани 17 съединения. От тях 14 са нео-клероданови дитерпеноиди. Осем известни клероданови дитерпеноиди са доказани за първи път в този вид, а останалите шест клеродана (скуталтисин В, скуталтисин С, скуталтисин D, скуталтисин Е, скуталтисин F и скуталтисин G) са нови за науката природни органични съединения. От ацетоновите екстракти получени от надземните части на два вида *Teucrium* са изолирани 11 фуруклероданови лактондитерпеноида, новите поливинцини А-С, 6-ацетилтеукрин F, теукрин Е ацетат, 3 α -ацетокси-теуквин, скордидесин А и познатите теуламифин В, теуполин XII, теукрин А и 6-кетотеускордин. Клероданът теуламифин В е доказан за първи път в *Teucrium polium*. На 6-кетотеускордин за пръв път е измерен и отнесен ¹³C ЯМР спектър. В обобщение, проведените фитохимични изследвания за наличие на клероданови дитерпеноиди обхващат 15 български растителни вида от 5 рода на сем. Lamiaceae (8 от *Scutellaria*, 3 от *Salvia*, 2 от *Teucrium*, 1 от *Ajuga* и 1 от *Stachys*). Изолирани и спектрално охарактеризирани са общо 48 дитерпеноида. Един от тях е с лабданов скелет (склареол), три са с 19-нор-клероданов скелет, а останалите 44 са нео-клероданови дитерпеноиди. С нови за науката

структури са 22 дитерпена: два с 19-*нор*-клероданов скелет и двадесет с *нео*-клероданов скелет. Други 13 дитерпеноида са доказани за първи път в изследваните видове.

Значително внимание е обърнато на възможни биологични активности на изследваните вещества. Изпитанията за биологично действие са ръководени от по-рано познати от литературата биологични активности на структурно подобни съединения. Антифидантна активност срещу ларви на *Leptinotarsa decemlineata* Say (колорадски бръмбар) е изследвана при общо 43 клероданови дитерпеноида изолирани от *S. alpina*, *S. galericulata*, *S. altissima*, *S. splendens*, *T. polium* и *T. scordium*, както и при екстракти от видове на род *Scutellaria*. Изследвано е потискането на храненето и възпирането на развитието на ларвите на *Leptinotarsa decemlineata* (Say) от екстракти от осем вида на род *Scutellaria*. Най-силно потискащо действие на храненето на ларвите на Колорадския бръмбар е констатирано при екстракта от *S. albida*. Много добра активност са били екстрактите от *S. altissima*, *S. galericulata* и *S. alpina*. Добри резултати са наблюдавани при изследване на антифидантния ефект, при условия на хранене с избор, на седем природни *нео*-клероданови дитерпени, изолирани от *Scutellaria alpina* и *Salvia splendens*. Тестваните при тези условия природни дитерпеноиди са показали много добро възпиране на ларвите на *Leptinotarsa decemlineata* Say да се хранят при доза от 1000 ppm ($\approx 33 \mu\text{g} / \text{cm}^2$).

Изпитано е антимикробното действие на клероданови дитерпеноиди срещу патогенни и хигиенно-индикаторни микроорганизми. Изследвана е противомикробната активност на двадесет и два *нео*-клероданови дитерпеноида, изолирани от ацетоновите екстракти от надземните части на видове от род *Scutellaria*, *Salvia* и *Teucrium* (Lamiaceae), срещу деветнадесет щамове, принадлежащи към единадесет различни вида патогенни бактерии в хранителни продукти, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella abony* и *Staphylococcus aureus*, както и срещу два щамове дрожди, принадлежащи към видове на *Candida albicans*. Три от изследваните съединения (скуталпин А, скуталпин Е и скуталпин F) са проявили умерена антимикробна активност срещу използваните при тестовите микробни щамове. Дитерпените съдържащи фураново ядро са показали слаба активност, а останалите съединения са били неактивни.

Цитотоксичността на някои от изолираните *нео*-клероданови дитерпеноиди е тествана върху човешки ракови клетки (H1299) и нормални клетки от пъпна връв (HUVEC). Три съединения (скуталпини А, Е и F) са показали слаба до умерена цитотоксичност срещу двете клетъчни линии. Сред всички тествани съединения най-висока активност е установена за скуталпин А, с IC_{50} стойности от 21.35 и 23.9 μM . Останалите съединения са били неактивни в рамките на изследваните концентрационни граници.

Собствените изследвания на дисертанта се допълват от кратък подраздел, описващ изолиране и охарактеризиране на някои други вещества от растителен произход. Изследван е химичния състав на етерично масло на три растителни вида, извършено е количествено определяне на полифеноли в *Scutellaria altissima*. Изолирани и охарактеризирани са стероли, клероиндицини и глюкозидно свързани иридоиди.

5. Публикации по дисертационния труд

Дисертантът е представил общо 28 публикации, които не са участвали в процедурата за придобиване на ОНС „доктор“. От тях 18 публикации са в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (ISI Web of Knowledge и/или Scopus). Към тази група се добавя още една статия, цитирана в споменатите бази данни. В повечето от публикациите дисертантът е първи или кореспондиращ автор.

До момента в специализираната литература са забелязани общо 142 цитирания на включените в дисертацията публикации.

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 ПУ „Паисий Хилендарски“. Представените материали и резултати **покриват** специфичните изисквания за придобиване на научната степен „доктор на науките“ в област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.2. „Химически науки“ (Органична химия). Дисертационният труд показва, че Петко Иванов Бозов **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения като **демонстрира** качества и умения за провеждане на изследвания с получаване на оригинални и значими научни приноси. Поради гореизложеното, давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от дисертационния труд и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди научната степен ‘доктор на науките’** на Петко Иванов Бозов в област на висше образование: „Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.2. „Химически науки“, Научна специалност „Органична химия“.

23.04. 2021 г.

Изготвил рецензията:

доц. д-р Пламен Ангелов