

## РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Веселин Иванов Илиев

член на научното жури, по конкурс за заемане на академична длъжност “доцент” в професионално направление 4.2. Химически науки по: 01.05.10. Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества, обявен от Института по Органична химия с Център по фитохимия при БАН в Държавен вестник, бр. 84 от 27.09.2013 г. с кандидат гл. ас. д-р Ваня Николова Мантарева

За участие в обявения от Института по Органична химия с Център по фитохимия при БАН конкурс за научното звание доцент по специалността 01.05.10 – Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества (ДВ бр. 84/27.09.2013 г.) се е явил като единствен кандидат гл. ас. д-р Ваня Николова Мантарева.

Предоставените ми за рецензия материали са редовни, добре подредени и оформени.

### **I. Общи данни за кандидата**

Гл. ас. д-р Ваня Николова Мантарева е родена през 1966 г. в гр. София. Висше образование получава в ХТМУ – София през 1990 г. с много добър успех и придобива квалификация „инженер-химик”, магистър. От 1991 г. до момента тя работи в Институт по Органична химия с Център по фитохимия при БАН, последователно като химик – до 1995 г., като н.с. III ст. –до 1999 г., като н.с. II ст. –до 2005 г., и като главен асистент (н.с. I ст.) - до момента

През 1998 г. от ВАК и е присъдена научната и образователна степен „доктор” въз основа на успешно защитена дисертация на тема “Получаване, фотохимични и фотосенсибилизационни изследвания на Zn (II) – 2,3 нафталоцианинови комплекси” с научни ръководители: ст.н.сътр. дбн М. Шопова и проф. д-р Д. Върле

Д-р Мантарева владее много добре английски език.

### **II. Обща характеристика на научно-изследователската и научно-приложна дейност на кандидата**

Гл. асист. Мантарева кандидатства в конкурса с 32 научни публикации от които 15 в списания с импакт фактор, 2 глави в книги с редактор, 9 в томове на поредици с импакт ранг (SNIP); 1 в списание с импакт ранг, 3 в печатни издания от доклади на конгреси и 2 в български списания без индексация. Труд № 13 е обзорна статия върху приложението на металофталоцианини при антимикробна фотодинамична терапия. В 16 от публикуваните

статии д-р Мантарева е първи автор, в 9 – втори, а в останалите – трети и последващ автор. Общият преглед на научната продукция на д-р Мантарева показва, че тя има водеща и/или съществена роля в изследванията, особено в областта на синтеза и охарактеризирането на изследваните фотосенсибилизатори с приложение във ФДТ.

Основната част от трудовете на д-р Мантарева са публикувани във високо-реномирани международни списания: три статии в *J. Porphyrins Phthalocyanines* – IF = 1.43; две статии в *J. Photochem. Photobiol. B* – IF = 3.11; по една статия в: *Bioorg. Med. Chem.* – IF = 2.90, *FEMS Lett.* – IF = 2.05, *Eur. J. Med. Chem.* – IF = 3.49, *Photochem. Photobiol. Sci.* – IF = 2.92, *Photochem. Photobiol.* – IF = 2.29 и др. Трябва да се отбележи също публикуването на част от научните изследвания на кандидата в глави от книги с международен редактор.

Част от научните резултати на д-р Мантарева са отразени като резюмета в протоколите на 14 международни и национални научни форума с общо 19 съобщения. Пет от участията са представени като устни доклади, а останалите са постерни съобщения.

За конкурсния период участието на д-р Мантарева в различни проекти е значително. Тя участва в 7 международни и 4 национални проекта. Ръководител е на два международни проекта, 1 - финансиран по програма на ЕС и 1 - по линия на научния обмен с Турция. Ефективно сътрудничи с учени от България, Германия, Турция, Израел и др.

Д-р Мантарева е била научен ръководител на 3 дипломанти – 2 при изработване на магистърска дипломна работа и 1 при изработване на бакалавърска дипломна работа.

Материалите, представени от кандидата, отговарят на националните критерии за заемане на академична длъжност доцент, както и на специфичните изисквания на правилника на Института по Органична химия с Център по фитохимия. H-индексът на представените научни публикации е 11, което определено покрива и надхвърля изискванията за заемане на академична длъжност “доцент”.

Прегледът на представените материали показва, че кандидатът има ясно изразена тематика, която е свързана със синтез, физикохимично охарактеризиране и изследване на свойствата на съединения от порфиринов и фталоцианинов тип и приложението им в биомедицината за профилактика, фотодезинфекция и като терапевтичен метод за денталната медицина.

В настоящата рецензия ще бъдат разгледани постиженията на д-р Мантарева отразени в 32 труда (тр. 1 - 32).

### **III. Основни научни приноси**

Научните приноси на кандидата са детайлно описани в приложената справка. Те са в

следните направления:

1. Разработване на биологично-активни фотосенсибилизатори за метода ФДТ.

2. Разработване на методи за фотохимични и фармакокинетични изследвания на фотосенсибилизатори.

3. ФДТ с ново поколение фотосенсибилизатори с приложение в био-медицината

**III. 1. Разработване на биологично-активни фотосенсибилизатори за метода ФДТ [4-14,20-23,25-27,30-32]<sup>1</sup>.**

Способността на метални фталоцианинови и порфиринови комплекси с различни заместители да генерират синглетен кислород или кислород-съдържащи радикали при облъчване с видима или близка ИЧ светлина стои в основата на фотодинамичната терапия. В присъствие на фотосенсибилизатори генерираният синглетен кислород ( $^1\text{O}_2^*$ ) по така нареченият "тип II механизъм" е с висока реакционна способност и токсичност по отношение на патогенни клетки (биоорганични макромолекули). При фталоцианиновите комплекси (Pc) фотофизичните изследвания показват, че дългоживущи триплетни състояния могат да се формират, когато централните метални йони във Pc комплексите са със запълнени електронни слоеве или d орбитали. При тези условия в резултат на енергиен пренос между триплетния  $\text{O}_2$  ( $^3\Delta_g$ ) и формираното възбудено триплетно състояние във фталоцианиновия комплекс е възможно генерирането на  $^1\text{O}_2^*$ .

Серия от работи са посветени на насочен синтез на порфиринови и фталоцианинови комплекси, целящ оптимизиране на физикохимичните свойства на фотосенсибилизаторите за ФДТ от така нареченото второ и трето поколение [4-14,20,22,32]. Високо спрегнатата структура на тези природни и синтетични хетероциклени багрила позволява абсорбция в спектралния диапазон между 630–850 nm, в който нативните клетъчни хромофори и водата не абсорбират приложената светлина [2,3]. Ароматните макромолекули на фталоцианиновите (~ 675 nm) и нафталоцианиновите (~ 760 nm) комплекси се характеризират със симетрична, планарна структура, подходяща за структурни модификации [4,5,9,10,14].

Чрез подбор на подходящи заместители в фталоцианинови и порфиринови комплекси са извършени структурни модификации на фотоактивните съединения с цел оптимизиране на фотофизичните им свойства на абсорбция и флуоресценция, както и на фотохимичните свойства, произтичащи от генерирането на синглетен кислород и радикали. При синтеза на субституираните хетероциклени комплекси специално внимание е обърнато на фармакокинетичните им свойства, като натрупване, задържане и селективност спрямо болестотворни клетки (тумори, патогенни микроби и вируси), които зависят от структурата

---

<sup>1</sup> Използвана е номерацията на трудовете, предоставена от кандидата

на фотосенсибилизатора. Целяло се е също синтезираните фотосенсибилизатори с приложение за ФДТ да не са с висока фотостабилност, тъй като те бавно се изчистват от тъканите и предизвикват нежелана фототоксичност.

Получени и охарактеризирани са фталоцианинови комплекси координирани в макроцикъл на молекулата с йони на:  $Zn^{2+}$  [1-3,6-8,15,20,23,25-27,30-32],  $Ga^{3+}$  [8,9,11,21, 31],  $In^{3+}$  [8,11,21],  $Al^{3+}$  [8,11,23],  $Si^{4+}$  [1,4,10,18],  $Ge^{4+}$  [10] и  $Pd^{2+}$  [24] характеризиращи се с дългоживущи триплетни състояния, предпоставка за генериране на  $^1O_2^*$ . Изследвани са също порфиринови комплекси на  $Zn^{2+}$  [12] и нафталоцианинови на  $Si^{4+}$  [5,18].

Структурата на изследваните фотосенсибилизатори е модифицирана чрез функционализиране в периферна (мезо-позиция за порфирини и  $\beta$  – позиция за фталоцианини) или непериферна (за фталоцианини) позиция. Синтезирани са също порфиринови и фталоцианинови комплекси съдържащи заместители към централния метален йон в макроциклите, когато той е в трета или по-висока валентност. Подбрани са различни функционални групи като заместители, като в случаите на пиридилокси- група, чрез алкилиране с различни алкилйодиди (метил-, пропил-, хексил- и додецил-йодид) са получени различни по хидрофобност Zn(II)-фталоцианини (ZnPcs) [3,7,13].

Установено е, че катийонни, хидрофилни фталоцианинови комплекси на Zn(II), Ga(III) и Si(IV) с четири или осем метилпиридилокси групи в периферна позиция показват оптимални абсорбционни и флуоресцентни свойства, относително високи квантови добиви на флуоресценция и на синглетен кислород. Показано е, че синтезираните фталоцианинови комплекси са подходящи за целите на фотоинактивиране на резистентни дентални патогени [1]. Синтезирани и изследвани са хидрофилните, катийонен ZnPcMe (с метилпиридилокси групи) и анионен ZnPcS (с бензофенокси групи) [6] и хидрофобните ZnPcHe с хексилпиридилокси групи и ZnPcDo с додецилпиридилокси групи [2,3]. За ZnPcMe е установено високо ниво на натрупване и висока фотодинамична активност [6]. При хидрофобните ZnPcHe и ZnPcDo е установен интензивен флуоресцентен сигнал на инкубираните клетки В16 пигментиран меланом [2,3]. За ZnPcHe и ZnPcDo е установена селективност на натрупването им в туморни спрямо нормални клетки, което позволява при флуоресцентна диагностика да се наблюдава висок контраст между туморни и нормални клетки [2,3]. При фотодинамични изследвания с водно-разтворими катийонни, метилпиридилокси- заместени фталоцианини (MPcs) и анионен тетра- бензофенокси- Zn(II)-фталоцианин (ZnPcS) са установени предимствата за натрупването в патогенни клетки на катийонни комплекси на фталоцианини като ZnPcMe, GaPc1, GaPc2, SiPc1 [6,8-11,13] и на катийонни порфирини P<sub>y</sub>P и ImP [12].

Синтезирани и изследвани са също аксиално заместени Si(IV)-фталоцианин (SiPc) [4] и Si(IV)-нафталоцианин (SiNc) [5] с две метоксиетиленгликолни групи при Si(IV). Изследвана е фототерапевтичната активност на комплексите по отношение на белодробен карцином при мишки. Показано е, че двата аксиално заместени фталоцианинови комплекси показват висок афинитет към изследваните експериментални туморни образувания.

Друг използван синтетичен подход е функционализирането на фталоцианинови молекули с биологично-активни групи, с които се цели повишаване на фотодинамичния ефект. Със защитена галактоза в периферна позиция на макроцикъла на ZnPc е постигната относително добра селективност на галактопираноза-заместени Zn(II)-фталоцианини (GalZnPcs) в случая на туморни клетки [14,22,25]. Получени са имобилизирани фотосенсибилизатори (фталоцианини и фуларен C60) върху гранули от полипропилен (100 нм) и са изследвани техните фотофизични свойства като подходящи за фотоинактивиране на патогенни микроорганизми [32]. Изследванията на абсорбционните и флуоресцентни свойства на получените цветни гранули показват, че фотосенсибилизатора е адсорбиран върху повърхността на полимера във фотоактивно мономерно състояние, което е предпоставка за висок ФДТ ефект [32].

### **III. 2. Разработване на методи за фотохимични и фармакокинетични изследвания на фотосенсибилизатори.**

Генерираният синглетен кислород в присъствие на фталоцианинови комплекси, който стои в основата на фотодинамичната терапия е оценяван при използване на вещество гасител на синглетения кислород, т. е. чрез прилагане на индиректен фотохимичен метод. Разработени са специфични методи за фотохимични и фармакокинетични изследвания на фотосенсибилизаторите, тъй като условията на експеримента зависят от дължина на вълната на източника за възбуждане, вида разтворител и времето на облъчване. Апаратурата за провеждане на експериментите се конфигурира в зависимост от оптичните свойства на фотоактивните съединения в биологично-съвместими разтворители [8,12,13].

На базата на флуоресцентните свойства на изследваните фотосенсибилизатори (фталоцианин или порфирин) са разработени методи за провеждане на фармакокинетичните изследвания. Установено е, че флуоресценцията се регистрира успешно в клетъчни среда или директно в клетъчни култури, в случаите когато сигналът не се препокрива с флуоресцентната емисия на ендогенните клетъчни хромофори (албумин, трипсин, хемин, цитохром С, меланин) [2,3]. Използвани са различни подходи за качествена и количествена оценка на натрупването, задържането и изчистването на фотосенсибилизатора от клетките в зависимост от биологичните обекти (бактериални или туморни клетки).

На основата на флуоресценцията на остатъчните съединения в клетъчната среда след инкубиране на клетките са проведени количествени фармакокинетични изследвания. Чрез проследяване на флуоресценцията на екстракта, получен от химическата обработка на клетките е определено натрупаното количество на фотосенсибилизатора в тях [1,3-7,10-14].

Чрез директна флуоресценция на фотоактивните съединения качествено е оценено натрупването на фотосенсибилизатора в различни биологични обекти (бактериални, туморни клетки или микробни биофилми). Показано е, че при изследваните фотосенсибилизатори с интензивна абсорбция > 630 нм, флуоресцентният сигнал не се припокрива с нативната флуоресценция на хромофорите на биологични клетки [1,9-14,24, 25,27].

### **III. 3. ФДТ с ново поколение фотосенсибилизатори с приложение в био-медицината**

За оценяване на предимствата на синтезираните и охарактеризирани ново поколение от фотосенсибилизатори за ФДТ с приложение в био-медицината, изследванията са провеждани в сравнителен аспект с клинично утвърдени фотоактивни съединения, като незаместен Zn(II) фталоцианин, метиленово синьо и хематопорфиринов дериват [21,23,31].

Освен клиничното приложение на ФДТ в терапията на тумори е установено, че методът успешно може да се използва и при третиране на бактериални инфекции чрез фотоинактивиране на резистентни патогенни микроорганизми като се явява алтернатива на конвенционалната терапия с антибиотици [19-24,27,29-31]. Проведените изследвания за приложение на ФДТ показват, че методът е особено переспективен в областта на денталната медицина, особено при използването на синтезираните по-ефективни фталоцианинови фотосенсибилизатори в комбинация със съвременните източници на светлина, необходими за тяхното възбуждане [1,19-24,26,28,29,31].

## **IV. Отражение на научните публикации на кандидата в българската и чуждестранна литература**

Трудовете на д-р Мантарева са оценени положително от научната общност. Показател за това е широкото им цитиране в специализираната научна литература, както и установеното сътрудничество и съвместни публикации с чуждестранни специалисти. В представената справка от кандидата за целия период са забелязани общо 273 цитирания, а на представените за участие в конкурса статии цитиранията са 171, като почти всичките са от чуждестранни автори в международни списания и материали на научни форуми. Важно е да се отбележи, че три публикации (№ 8, 11 и 16) са цитирани съответно 25, 63 и 26 пъти. Така кандидатът надхвърля многократно препоръчителните изисквания (20 цитати) от правилника на ИОХЦФ -БАН за условията и реда за заемане на академичната длъжност “доцент”.

## V. Други

Не познавам лично д-р Минтарева, но представената научна продукция и цялостната и дейност оставят много добро впечатление. Като отчитам личните качества на кандидата считам, че сътрудничеството и с проф. Вьорле от Университета в гр. Бремен е допринесло много за оформянето и като един от водещите учени в областта на синтеза и охарактеризирането на разнообразни класове от заместени фталоцианинови и порфиринови комплекси с приложение в ФДТ.

Нямам критични бележки към научните трудове на д-р Минтарева по отношение на тяхната целесъобразност, методичен подход и интерпретация на експерименталните резултати.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Научните приноси на д-р Мантарева показват, че тя е изграден специалист способен да решава актуални проблеми в областта на синтеза, физикохимичното охарактеризиране и изследване на свойствата на съединения от порфиринов и фталоцианинов тип както и приложението им в био-медицината като терапевтичен метод и метод за профилактика. Научната продукция на д-р Мантарева показва умението и да работи в колектив със специалисти от други области на науката със собствен принос и идеи. Материалите, представени от кандидата, надхвърлят значително по обем и качество както националните критерии за заемане на академична длъжност доцент, така и специфичните изисквания на правилника на ИОХЦФ-БАН.

Имайки предвид гореизложеното и комплексната оценка на дейността на кандидата, препоръчвам с убеденост на Научното жури при Института по Органична химия с Център по фитохимия при БАН да присъди на **гл. ас. д-р Ваня Николова Мантарева** академичната длъжност „**ДОЦЕНТ**” по професионално направление 4.2. „Химически науки”, научна специалност, 01.05.10. „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества”.

23.01.2014 г.

София

Рецензент:

(проф. д-р Веселин Илиев)