

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд на Адриана Каменова Славова-Казакова на тема: «Кинетика и механизъм на липидното окисление в присъствие на моно- и бифенилни антиоксиданти – самостоятелно и в смеси», представен за получаването на образователната и научна степен «доктор» по научната специалност «Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества»

от доц. д-р Даниела Илиева Бътовска, Институт по органична химия с Център по фитохимия при БАН (ИОХЦФ-БАН)

Познавам лично Адриана Казакова от месец февруари 2005 г., когато тя в качеството си на студент от магистърската програма на специалност «Фин органичен синтез» в ХТМУ–София, започна дипломен стаж в лаборатория «Химия на природните вещества», ИОХЦФ, под мое ръководство. В рамките на 9 месеца, Адриана успя да изработи, оформи и защити с отличие дипломната си работа на тема: «Синтез на халкони и нов поглед върху някои от биологичните им активности». Част от резултатите ѝ бяха публикувани в *European Journal of Medicinal Chemistry*, IF₂₀₀₇ 2.3. Непосредствено след защитата, магистър Казакова беше назначена в нашата лаборатория за 1 месец като химик специалист.

От февруари 2006 г. до януари 2010 г. г-жа Казакова работи като специалист инженер-химик в лаборатория «Строителна химия и изолации» към Научноизследователски научен институт-НИСИ ЕООД. Но интересът ѝ към науката я връща отново в нашия институт, и от 01.01.2010 г. тя е зачислена като редовен докторант под ръководството на доц. д-р Весела Кънчева. На 01.01.2013 г. е отчислена с право на защита. А от 01.01.2014 г. Адриана заема позиция на асистент.

Дисертационният труд е озаглавен «Кинетика и механизъм на липидното окисление в присъствие на моно- и бифенилни антиоксиданти – самостоятелно и в смеси». Това заглавие е заложено при самото зачисляване на Адриана и процедурно не е било възможно да се замени с по-уместно в прогреса на изработване на дисертацията. Трудът засяга една много актуална и бързо развиваща се в световен мащаб научно-изследователска област. Представлява огромна по обем работа, която е типичен пример за съвременно научно изследване, осъществено от интердисциплинарни екипи.

Изработен е основно в лаборатория «Химия на липидите» в ИОХЦФ-БАН, но за изпълнението на някои от поставените задачи са установени успешни сътрудничества с други лаборатории от института – «Органичен синтез и стереохимия» (ОСС), «Структурен органичен анализ» (СОА) и «Биологично активни вещества-Пловдив» (БАВ), както и с международни организации – Руската и Полската академии на науките (РАН и ПАН), два италиански института по биомолекулярна химия, съответно в Сардиния и Катания и Университета в гр. Делхи, Индия. По този начин докторантката безспорно е развила качества и е придобила умения за работа в екип и за използване на разнообразни методи и подходи при решаване на целеви задачи, което ще е особено полезно за нейната бъдеща научно-изследователска работа. Но все пак би било уместно тя да посочи, които части от дисертацията са изработени лично от нея.

Предоставеният ми за рецензия труд е написан върху 207 страници, илюстриран е богато с 20 таблици, 41 фигури, 13 схеми и 2 приложения и е структуриран както следва:

Въведение – 2 страници; **Цели и задачи** – 2 страници; **Литературен обзор** – 60 страници; **Експериментална част** – 11 страници; **Резултати и дискусия** – 108 страници; **Обобщени изводи** – 2 страници; **Приноси** – 1 страница; **Публикации, участия в конференции и цитати** – 3 страници; **Литература** – Вместо определените от докторантката 209 литературни източника, налице са 208, тъй като в списъка на литературата, приложен в края на работата, източник 111 на стр. 204 липсва. От 208-те източника, около 30% са публикувани през последните 10 години (между 2004 г. и 2014 г.), което означава, че Адриана е запозната добре със съвременните изследвания в различните сфери, касаещи изработването на дисертацията.

Въведението е стегнато и добре написано. Ясно е обоснована мотивацията на докторантката и нейната ръководителка да изследват конкретни синтетични фенолни съединения, както и да получат дву- и трикомпонентни композиции от тях, с цел постигане на синергизъм между отделните съставки.

Целите и задачите са формулирани ясно и са подредени логично.

Литературният обзор разглежда последователно някои от групите липиди, кинетиката и механизма на липидното автоокисление, известни природни и синтетични антиоксиданти, подходи и методи за оценка на антиоксидантната активност. В този раздел също са представени и структурни особености, разпространението в природата и биологични активности на представители на основните класовете съединения, към

които принадлежат изследваните в дисертацията антиоксиданти, а именно лигнани и неוליгнани, куркумин, някои негови метаболити и аналози, както и кумарини и техни хидроксилрани, алкилирани и алкоксилирани производни. Като цяло тази част от работата е по-многословна, витиевата и не особено атрактивна за четене.

По отношение на групите липиди е акцентирано върху мастните киселини и триацилглицеролите, които са най-широко разпространени в растителния и животински свят и са най-чест обект на окисление и изследване като моделни системи. Съвсем накратко са разгледани някои други групи липиди, избрани по неясно какъв принцип. Това са глицерофосфолипиди, сфинголипиди и стероли. Тяхното представяне съвсем не е било необходимо, тъй като те нямат никаква връзка с изследванията в дисертацията. За някои от съединенията са дадени общи формули. Такава липсва за мастните киселини. Съответните подраздели, описващи гореспоменатите липиди са от 1.1.1 до 1.1.3 на страници 5÷7 и не съдържат нито един цитат. Вероятно информацията е взета от учебник и е редно той да бъде посочен като източник на информация.

В точка 2 «Липидно автоокисление» на страница 7, с цитат е подкрепен единствено последния параграф и не е ясно от къде е взета информацията преди него.

По-нататък, в подраздел 2.1 «Кинетика и механизъм на липидното окисление» става ясно, че докторантката е прекрасно запозната с проведените преди нея изследвания в лаборатория «Химия на липидите», където водещи са трудовете на научната ѝ ръководителка доц. д-р Весела Кънчева. Тъй като обаче самата област е доста динамична, е препоръчително да бъдат включени повече обзорни публикации, което би позволило да се избегнат немалкия брой цитати, датиращи между 40-те и 80-те години на миналия век. Това би допринесло също за постигането на по-стегнат, сбит и лесно усвояем текст.

Относно формулите на Схема 2 (стр. 19) и Схема 3 (стр. 21) е редно за по-голяма яснота да бъдат въведени номерата на позициите върху формулите. Също така не става ясно кои от формулите, представени на Схема 2 на кои от киселините, описани в текста под схемата, отговарят?

Експерименталната част е описана ясно и точно с някои много малки изключения. С оглед на това, че дисертацията е написана на български език, съм убедена, че означения като «цис-» и «транс-» трябва да бъдат на български език в целия текст. Същото се отнася и до наименованията на химичните съединения, включително и на тези, които са изследвани от докторантката, независимо, че те са предоставени от чуждестранни групи.

В т. 2 «Методи», подточка 2.1.1 (стр. 69) не е посочено в подзаглавието и в текста под него в каква проба е определено съдържанието на първични продукти на липидно окисление чрез йодометричен метод. Защо получените данни са представени в експерименталната част?

Препоръчва се използваните стойности, независимо от мерната единица, да бъдат представени с еднаква точност в целия текст на дисертацията.

В подточка 2.1.3 «Инхибиране на липидните проби» (стр. 70) не става ясно от какво и как е пречистен използвания като разтворител ацетон. Пак там е посочено, че пробите се съхраняват при минус 10 °С, на тъмно. Дали това се отнася само за пробите или за пробите плюс субстрата?

В подточка 2.2.2 (стр. 70) е описана тънкослойно-хроматографска биоавтография с DPPH радикал. Работила ли е докторантката по описана в литературата процедура или това е нейна разработка?

В подточка 2.3.1 (стр. 71) се забелязват следните цитати [2 бр. Реф. Йорданов и Кънчева] и Nenadis и Tsimidou [Ref.], което ги отличава от стила на цитиране в текста.

Разделът «**Резултати и дискусия**» е най-силната част в дисертацията. Написан е интересно, резултатите са представени нагледно и са дискутирани компетентно. Трите групи изследвани съединения са разгледани в отделни глави и всяка завършва с изводи от цялостните им изследвания. Особено добро впечатление прави включването на квантово-химичните изчисления и предлагането на вероятни механизми на антиоксидантна активност.

Забелязват се някои малки неточности. На Фиг. 15 на стр. 78 е допусната грешка във формулата 3-4, където една от естерните групи съдържа един кислороден атом в повече.

До колко е надеждна оценката за радикал-уловителна активност, получена въз основа на визуалния АРА/ТСХ тест с DPPH радикал? При отчитането на ефекта на разтворителя е отбелязано, че в присъствие на метанол е възможно да се получи «лъжлива» антирадикалова активност за съединения без свободни фенолни групи. От друга страна, за ацетона е предположено, че оказва блокиращ ефект върху фенолните групи. Защо тогава не е използван етанол като разтворител на DPPH, както това е направено в оригиналната работа на Nenadis и Tsimidou?

Каква е практическата стойност на изследването с DPPH радикал? Би ли могъл да се приложи придобитият от него опит и как при *in vitro* изследване на способността

на същите съединения да улавят друг тип радикали, например супероксид анион радикал, азотен монооксид и хидроксилни радикали?

В таблици 6, 8, 9, 10, 11, 14 и 16, в колонката, озаглавена «Съединение» и/или «Смеси» трябва да се махнат надписите «съкр.» или «абрев.», защото по-долу в съответните колонки не са използвани съкращения (абривиатури), а просто означения на съединенията. Това е очевидно и не е необходимо да се указва допълнително.

Изречението от стр. 115 «За пореден път се доказва, че влиянието, което оказват заместителите в *para*-позиция спрямо фенолната група, върху пространствената ориентация на M_1OH и $D_1(OH)_2$, е от голямо значение» трябва да бъде подкрепено от цитати на други работи, доказващи същото. От цитат се нуждае и изречението от стр. 161 «При метода, прилаган в HORAC изследванията се извършват във водна среда при $pH = 7.4$ и физиологична температура.»

На Фиг. 35 (стр. 165) не е посочено кой пръстен в кумариновата структура е А и кой е В.

Изречението преди Фиг. 37 (стр. 169) е недовършено и неясно.

В Таблица 16 (171÷172 стр.), в крайната вдясно колонка, озаглавена «Източник» може да се види един от двата символа «*» или «н.р.». Какво означават те?

Изводите и приносите са добре изведени и дават пълна картина на добре свършената работа.

В извод номер 2 изразът „в различна степен» може да отпадне.

Думата „бефенилни» в извод 9 е една от многото технически грешки, допуснати в целия текст на дисертацията и автореферата. Налице са и граматически такива. Тъй като това не прави особено добро впечатление, си позволявам да препоръчам на Адриана за в бъдеще да бъде много по-внимателна и много по-активна при работа върху текстове на публикации и отчети на проекти.

Бих искала да подчертая, че този факт не променя приятните ми впечатления от изработката на дисертационен труд. Част от резултатите са публикувани между 2010-та и 2014 г. в 5 научни списания, две от които са с импакт фактор над 3.3. По едната от тях досега са забелязани 8 цитата. Адриана е първи автор при представянето на резултати от дисертацията под формата на устни доклади и постери в 8 международни и национални научни форума. Нейн постерен доклад е отличен с награда в категорията «млади учени» в Научна сесия по случай 120 години от рождението на акад. Димитър Иванов, проведена в ИОХЦФ-БАН.

Адриана Казакова е положила докторантски изпит по базисен предмет с оценка много добър (5.00). По време на обучението си тя е посещавала специализираните курсове за докторанти «Квантово-химични методи» и «Приложение на математични методи в инженерната химия» и е получила сертификати за успешното им завършване.

Заключение

Със своя дисертационен труд Адриана Славова-Казакова се представя като отлично подготвен млад специалист, който може да провежда самостоятелно и като член на интердисциплинарен колектив, антирадикалови и антиоксидантни изследвания на подходящо подбрани проби в следните направления: изучаване на кинетиката на протичащите процеси, предлагане на вероятен механизъм на действие, създаване на дву- и трикомпонентни композиции, в които да е постигнат синергизъм между съставните компоненти. Получените и представени резултати са оригинални и обогатяват значително съществуващите знания в тази област. По моя преценка представената дисертация отговаря напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) за получаване на образователната и научна степен “доктор”. Всичко това ми дава основание да препоръчам на членовете на уважаемото Научно жури да гласуват за присъждане на образователната и научна степен “доктор” на Адриана Каменова Славова-Казакова.

София, 06.04.2015 г.

Рецензент:



/Доц. д-р Даниела Бътовска/