

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р, инж. Павлинка Александрова Долашка, на представения дисертационен труд от асистент Йордан Николаев Георгиев, редовен докторант в „ЛБАВ-Пловдив“ към ИОХ ЦФ по професионално направление „Химически науки“, шифър 4.2; научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“ на тема: „Изучаване на структурата и имуномодулиращия потенциал на киселите хетерополизахариди от пектинов тип в български лечебни растения“, с научен ръководител: доцент д-р Мария Крачанова Симова.

Предложеният дисертационен труд от асист. Йордан Георгиев е продължение и реализация на натрупаните знания от завършената бакалавърска програма по спец. „Биотехнологии“ на тема „Разграждане на ябълков пектин и плодови пресовки от растителни и технически микробни ензимни препарати“ и магистърска програма по спец. „Биофармацевтична биохимия“ в Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ на тема „Ензимна модификация на имунологично активни пектинови полизахариди“. Научната тема е разработена в ЛБАВ – Пловдив при ИОХЦФ–БАН, с научен ръководител доц. д-р Мария Крачанова, като те продължават съвместната работа и доразвиват тематиката в докторантски труд на тема: „Изучаване на структурата и имуномодулиращия потенциал на киселите хетерополизахариди от пектинов тип в български лечебни растения“.

Като голям принос за израстването на асист. Георгиев в учен с обещаващ научен потенциал има и специализирането му в чужбина, в лабораториите на водещи научни екипи от Университет на Осло, Норвегия, в Масариков университет, гр. Бърно, Чешка република, в Университета „Китасато“, гр. Токио, Япония и Университета „Хумболт“ в гр. Берлин, Германия.

Асист. Йордан Георгиев ми направи отлично впечатление с интереса и отговорното отношение към овладяване на нови знания по време на курса по „Масспектрометрия и протеомика – методи и приложение“, който се проведе в

ИОХЦФ-БАН. Това ми впечатление се потвърждава и от много добре оформения дисертационен труд, в които отлично е описана и интерпретирана проведената изследователска работа. Много важна роля за високото научно ниво на представените експериментални данни имат проведените съвместни научни изследвания, както в колектива на доц. Крачанова, така и по време на специализацията на асист. Георгиев в чужбина.

Дисертационният труд на Йордан Георгиев обхваща 263 стр. и включва над 400 литературни източници, като по-голямата част от които са публикувани след 2000 г. Той е структуриран по традиционната схема – Литературен обзор, Материали и методи, Резултати и дискусия, като резултатите са илюстрирани с 36 цветни фигури и 21 таблици.

Литературният обзор обхваща 3 подраздела на 47 страници, като са представени литературни данни за химичното разнообразие на имуномодулиращи билкови кисели хетерополизахариди и на техните комплекси, както и на терапевтичните им ефекти. Представената информация е илюстрирана с 8 фигури и 2 таблици.

Литературният обзор разкрива голямото разнообразие на българските билки и техния потенциал за прилагането им във фитотерапията и храненето на хората. В този раздел подробно са представени познанията за структурата и методите за изследване на кисели хетерополизахариди, паралелно с химичното разнообразие на лектиновите полизахариди. Става ясно биологичната им активност и значение им, на което се дължи и големия интерес към тях.

Подробно е описан терапевтичният ефект и значението на активните кисели хетерополизахариди при модулиране на вродения и придобития имунитет, комбинаторни ефекти при имуномодулация с билковите полизахариди, които оказват влияние върху имунната система, гастропротективно действие, противоракова активност и др.

Също така са представени и перспективите за приложение на киселите полизахариди при прицелно-специфични лекарствени форми, като полизахарид-лигнини, или полизахарид-протеинови конюгати, както и на полизахарид-полифенолни и полизахарид-минерални комплекси, и пребиотици.

Целта на дисертационния труд е формулирана ясно: Да се изучат киселите хетерополизахариди от пектинов тип в традиционни и перспективни за България лечебни растения, и да се определи техния имуномодулиращ потенциал, с цел приложението им във фитотерапията, здравословното и лечебното хранене на човека.

За постигане на тази цел са формулирани 9 задачи, които се отнасят до изолиране и характеризиране на химичния състав на 42 водно-екстрахируеми ПЗСК-а, до определяне на антиоксидантната и имуномодулираща активности, както и изследване на комбинаторното влияние на някои съпътстващи нискомолекулни биологично активни съединения.

В Раздел „**Материали и методи**“ са описани на 10 страници използваните разнообразни диворастящи или култивирани билки, като лавандула, липа, коприва и др. Също така е представено голямото разнообразие на приложените методи и техники, като:

а) методи за изолиране и пречистване на водно-екстрахируеми билкови полизахарид-съдържащи комплекси (ПЗСК-и), както и използваната техника в японската Кампо медицина (екстракционни, хроматографски FPLC система и електрофоретични методи);

б) Методи за анализ на полизахарид-съдържащи комплекси чрез газова хроматограф и мас-селективен детектор;

в) Проведените фитохимични анализи на избрани ПЗК-и, чрез течно-течна екстракция на нискомолекулни съединения; инфрачервена спектроскопия с Фурие трансформация (FT-IR); ядрено-магнитен резонанс (ЯМР); малкоъглово рентгеново разсейване (SAXS); GC-MS и HPLC-UV анализи, и др.

г) Методи за биологична оценка и имуномодулиращи ефекти на изследваните вещества.

Разделът **Резултати и дискусия** е съставен от 6 глави, като първите 2 описват получените имунологично активни, водно-екстрахируеми, полизахаридни комплекси от традиционни и перспективни за България лечебни растения.

Направена е оценка на влиянието на някои органични съединения върху комплемент-фиксираща активност.

Следващите два подраздели са биоинформативни, като в Раздел 3 е представен стимулиращият ефект на киселите полизахаридни комплекси от тученица, сребролистна липа и обикновена лавандула върху имунокомпетентни клетки от миши чревни Пайерови плаки.

В други две глави е представено действието на пектиновите полизахариди от обикновената лавандула (*Lavandula angustifolia* Mill.) и от цветовете на сребролистната липа (*Tilia tomentosa* Moench) върху фагоцитарните левкоцити. Последният подраздел (Глава 6) е посветен на резултатите от изследване на структурата и имуномодулиращата активност на водно-екстрахируемите полизахариди от листата и корените на обикновената коприва (*Urtica dioica* L.).

Прилагайки класически, но добре адаптирани към обекта процедури за екстракция и пречистване, докторантът е успял да получи препаративни количества от билкови полизахариди и техните изходни комплекси, като е разработена и лабораторна схема за получаване на комбиниран билков полизахарид-съдържащ екстракт.

Най-съществения принос на дисертацията е свързан с определяне на структурните особености на изучените билкови полизахариди, имуномодулиращото им действие, като е изказано предположение за начина на имуномодулация с изучените билкови полизахариди.

Като обобщение на получените резултати, от всяка една глава са оформени индивидуални изводи и заключения, които са обобщени в 6 основни извода за дисертационния труд.

Задълбочените изследвания и получените резултати имат съществени научни приноси, добре формулирани в 5 точки. Като обобщение на получените резултати, може да се отбележат следните по-важни приноси:

1. Представен е надежден начин за получаване на богати на водно-екстрахируеми пектинови ПЗ комплекси от 11 европейски и в частност български лечебни растения.
2. Представена е информация за състава и имуномодулиращия потенциал *in vitro* и *ex vivo* на ПЗ. Открито е, че ПЗСК-и от редица широко използвани билки влияят на

интестиналната имунна система. Установени са представителни количества кисели ПЗСК-и в двете най-сериозно застъпени ботанически семейства Rosaceae и Lamiaceae.

3. Въпреки, че цветовете на липата са добре изучени, то докторантът е изолирал уникален пектинов ПЗ с имуномодулираща активност, с противовъзпалителен потенциал, представляващ необичайно ацетилирана при Rha и силно глюкуронидирана при GalA основна верига на РГ- I.

4. Като важен научен принос трябва да се отбележи откриването и характеризиране на биологично активни вещества, като ацетилирани и високометоксилирани пектинови ПЗ, в цветовете на обикновената лавандула и в листата на широко консумираната обикновена коприва, с мощно имуностимулиращо действие. Доказан ефект с най-мощно имуномодулиращо действие и най-висока интестинална имуномодулираща активност е определен за комплекса от коприва (корен).

5. Също така, е представен стимулиращия ефект на билкови комплекси ПЗК-и от липа, лавандула и тученица върху *ex vivo* активността на различни Т-клетъчни субпопулации и фагоцитарни левкоцити, изолирани от човешка кръв. Представен е противовъзпалителният потенциал на лавандуловите пектини, които активират вродения и придобития имунен отговор през кръвта и съдържащите се в нея СК, неутрофили, макрофаги, а също и през имунокомпетентните клетки от чревните ПП.

6. Други важни вещества в лавандулата, липата и копривата, с доказано противовъзпалителното действие, са пектините, за които също е установено, че допринасят за имуномодулиращото действие на трите билки.

7. Представени са някои от по-важните активни полизахариди от изследваните билки, с важно значение. Така, е представено имуномодулиращото действие на изолирания от цветовете на сребролистната липа ацетилиран и силно глюкуронидиран високомолекулен РГ-I, който свързва почти напълно O-3 глюкуронидирани GalA.

Задълбочените изследвания и получените резултати имат не само съществени научни приноси, но и научно-приложни приноси. Резултатите от дисертационния труд са с практическо приложение в българската икономика:

1. Представена е обемна справочна информация за съдържанието на водно-екстрахируеми ПЗ от 34 широко използвани лечебни растения и горски плодове, с ежедневна или специфична употреба.
2. Определена е *in vitro* комплемент-фиксиращата способност, антиоксидантната активност и за първи път *ex vivo* интестиналният имуномодулиращ потенциал на 42 ПЗСК-а от 34 билки, от които 29 билки са със стопанско значение.
3. Представена е задълбочена характеристика за имуномодулиращия потенциал на водно-екстрахируемите ПЗ от 4 билки: коприва (корен и лист), тученица, липа и лавандула, с голямо стопанско значение.
4. Получените резултати от проведеното мащабно изследване могат да бъдат основа за създаване на вторични продукти, с добавена стойност от култивирани български билки.

Резултатите от проведените изследвания по този дисертационен труд са отразени в 12 статии, в реферирани списания с ИФ и с 50 цитирания. Докладвани са и като устни доклади на 17 национални и международни конференции, и са представени като 4 постера.

Към дисертационния труд нямам забележки по същество, но имам някои препоръки, като:

1. Представените в Материали и методи хроматограми за определяне на монозахаридния състав на лавандула ПЗСК, на монозахаридния състав на пектиновата фракция chPS-L2, получена от лавандулов цвят след хроматографско пречистване, е добре да бъдат представени и обяснени в Резултати и дискусия.
2. Представените резултати в Главá 1, 2 и 3 са описани подробно, но са онагледени само с 2 фигури, и предимно таблици. Графичното представяне дава по-добра възможност за сравнителен анализ.
3. Номерираните фигурите за всяка глава започват от фиг. 1, което затруднява проследяването им и сравняване на резултатите в целия дисертационен труд.

Авторефератът отразява адекватно съдържанието и приносите на дисертацията.

Заключение: С представения дисертационен труд асистент **Йордан Николаев Георгиев** доказва, че е отлично подготвен специалист в областта на биоорганичната химия, който може да провежда комплексни изследвания в граничните научни области *химия, молекулярна биология и биохимия*, и да интерпретира сложни научни резултати.

Имайки предвид всичко това, както и значителните му научни приноси в изследването на активни вещества от различни билки, си позволявам **убедено да препоръчам** на уважаемото Научно жури да му присъди образователната и научна степен **“Доктор”**.

16.02.2018 г.

София

Рецензент:

/проф., д-р, инж. Павлина Долашка/