

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на тема „Анализ на фенолния състав и биологична активност при диви ягодоплодни видове от рода *Vaccinium* L.“, представена за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по 7.3 Фармация (Фармацевтична химия), представена от инж. Ивайла Недялкова Динчева – докторант към Химикотехнологичен и металургичен университет, катедра „Органичен синтез и горива“

от чл.-кор. проф. д-н инж. Атанас Иванов Павлов – Университет по хранителни технологии – Пловдив; Институт по микробиология при , назначен за член на научното жури по защитата от Ректора на Химикотехнологичен и металургичен университет със Заповед ОХ-315 /19.07.2016 г.

Представените ми за рецензиране материали са пълен набор от необходимите документи за законосъобразно протичане на защитата.

Актуалност

Растенията традиционно се използват от човечеството в качеството им както на енергийни хранителни източници, така и като суровина за конвенционални лекарствени препарати. Всъщност развитието на съвременната цивилизация до голяма степен е зависило от развитието на познанието и технологиите относно рационалното използване на този природен ресурс. Важна част от науката за растенията са ядливите растения, подобряващи функционалните свойства на хранителните системи. В тази връзка изследванията върху дивите горски плодове, в това число – червената и черната боровинка, са навременни и актуални тъй като безспорни са фактите, доказващи тяхното благоприятно въздействие върху различни функции в организма, свързани с намаляване на риска от редица социално-значими заболявания. Представените в дисертацията научни изследвания са интердисциплинарни и представляват принадлежна стойност в познанието в областите на природната химия, фармацията, хранителната химия и другите области на хранителната наука.

Характеристика на дисертацията

Дисертационният труд е оформен по възприетия в България класически модел, на 207 страници и включващ 38 фигури, 36 таблици, 78 приложения, 366 цитирани литературни източника (3 на кирилица и 363 на латиница). Структурата на дисертацията е балансирана, като отделните раздели дават възможност за задълбочено представяне на постигнатото в света до момента и за интерпретиране на получените резултати в изпълнение на формулираната цел.

Литературният обзор е логично структуриран и е с обем от 28 страници. Започва с информативна ботаническа характеристика и описание на разпространението на растенията от род боровинка (*Vaccinium*). Следва аналитично описание на фенолните съединения, акумулирани в растенията от рода; подходите за изолиране и пречистване на фенолните структури, както и обзор на методите за идентифицирането и анализа им. Не е подминат и въпроса за биосинтеза и биологичната активност на фенолните вещества в род *Vaccinium*. Представена е и синтезирана информация за другите структури с принос към биологичната активност на боровинките. Литературният обзор е написан аналитично, стегнато без излишни детайли. Предоставената информация, в тази част на дисертацията, може да бъде определена като стойностен анализ на известната до момента научна информация, свързана с темата на дисертацията. Анализиранията литература е коректно цитирана, като над 50% от обзорираните научни публикации са от последните десет години, което е показателно за задълбочената работа на докторантката в това отношение. Като недостатък на тази част на дисертацията може да се посочи твърде семплото обобщение на представената информация в раздела. В края на литературния обзор докторантката би могла по-категорично да отбележи, че липсата на систематични научни изследвания по отношение на химичния състав и биологичната активност на боровинките, растящи в България са в

основата на актуалността и навременността на представените в последствие изследвания.

Целта и задачите на дисертационния труд са правилно формулирани, така че изпълнението им да е база за следващо развитие на концепция за рационалното оползотворяване на ценните природни ресурси от това растение.

Разделът „Материали и методи“ е представен на 34 страници. Докторантката успешно се е справила с усвояването на необходимите за целта на дисертационния труд методи на изследване: Газхроматография, съчетана с масспектрометрия, високо ефективна течностна хроматография с ултравиолетова и масспектрометрия, разнообразни методи за анализ на биологичната активност при инвитро условия (антиоксидантна, антимикробна и антивирусна активност), твърдофазова екстракция, като метод за диференциране на базисните екстракти, статистическа обработка на получените резултати. Условиата за провеждане на експериментите и апаратурата са описани по начин, позволяващ тяхното повторение. Усвояването на такъв широк спектър от съвременни аналитични методи за анализ е пример, потвърждаващ образователната стойност на докторантурата. В края на раздела е отделен параграф, обобщаващ използвания софтуер и методите за статистическа обработка на резултатите, което конкретизира този аспект от работата на докторантката.

Критичните ми бележки към този раздел са свързани с представените данни за валидирането на новите аналитични методики. Тези данни отразяват изпълнението на поставените първи две задачи. Според мен това са и основните методични приноси на дисертация. Следователно тази информация би следвало да е интегрална част от раздела „Резултати и обсъждане“.

Резултатите от изследванията по дисертационния труд са обобщени в 7 фигури и 22 таблици. Дискусията на получените резултати показва задълбочено познаване на проблематиката. Логично експерименталната работа започва с анализ на общото фенолно съдържание, мономерните антоциани и антиоксидантната активност на базовите екстракти от изследваните боровинки от различни местообитания. Следва да се отбележи, че подборът (както на местообитанията, така и на периода на събиране) на плодовете за изследване е осъществен по начин, позволяващ получаването на статистически значими резултати. Независимо от установените вариации, вследствие на вариациите на климатичните условия, докторантката категорично доказва, че видът и местообитанието са основните фактори, влияещи върху количеството на изследваните биологично активни структури и антиоксидантния капацитет на базисните екстракти. Плодовете на черните боровинки, растящи в Родопите показват най-висока биологична активност. Потвърдени са предишни изследвания, че акумулирането на фенолни вещества зависи от надморската височина, на която растат боровинките и тази зависимост е правопрпорционална. Докторантката не се задоволява с тези сравнителни анализи и изследва екстракти от червени и черни боровинки с произход Норвегия и Китай. Това ѝ позволява да направи извода, че освен надморската височина и географската ширина е фактор повлияващ биосинтеза на полифенолите и биологичната активност на изследваните плодове на боровинка. За съжаление докторант Динчева е разполагала с материал само от една година, което прави представените резултати с по-ниска степен на статистическа достоверност. Независимо то това, получените резултати недвусмислено показват ценността на българските природни ресурси по отношение на боровинките.

Очевидно провокирана от добрите резултати, получени при изследването на съдържанието на общите феноли, мономерните антоциани и антиоксидантната активност на базовите екстракти,

докторантката насочва своето внимание към по-задълбочена фитохимична характеристика. Представени са данни за съдържанието на свободни и свързани фенолни киселини (GC-MS); антоцианидини, флаваноли, флавони и флаванони (HPLC-UV); антоциани и проантоцианидини (LC-ESI-MS). При всички изследвани плодове е установено по-високо съдържание на производните на хидроксиканелената киселина в сравнение с тези на хидроксibenзоената. Доказано е, че общото количество на двете групи фенолни киселини, свързани и свободни както в черните, така и в червените български боровинки е около 30% по-високо от количеството им в боровинките с произход Китай. Дефинирани са и факторите, отговорни за съдържанието на фенолните киселини – генетичен (местообитание) и климатичен.

По отношение на антоцианидините е установено, че червените боровинки биосинтезират само цианидин, а черните делфинидин, цианидин, пеонидин, петунидин и малвидин. Този факт е с важна практическа стойност от гледна точка възможността за създаването на надеждни методи за качествен контрол на хранителни системи, структурирани на база плодове от боровинки.

Следващите изследвания, представени в докторантурата са свързани с биосинтезираните и акумулираните в изследваните плодове антоциани. Наред с екстензивния количествен анализ и дефинирането на факторите, влияещи върху нивата на акумулираните антоциани следва специално да се подчертае статистическият анализ направен на база анализ на главния компонент. На база вариациите в концентрациите на акумулираните антоциани категорично са разделени както червените, така и черните боровинки по произход. Резултат, предоставящ възможност за паспортизиране на произхода, което е от особено значение за защита на нашите продукти на международните пазари и пряко рефлектира и на продажните цени.

Логично, след обосновката на основните фактори, влияещи на биосинтеза и акумулирането на полифенолите, както и на биологичната

активност на боровинките, докторантката насочва своето внимание към почвено-климатична характеристика на местообитанията на червена и черна боровинка и доказва, че обследваните райони на естествените местообитания притежават висок потенциал за отглеждане на екологично-чисти растения.

Друг аспект от работата на докторант Динчева са изследванията на биологичната активност (антимикробна и антивирусна) на екстрактите от червена и черна боровинка. Установено е, че базовите екстракти инхибират развитието на ентеровирус CV-B1 и грипен вирус A/H3N2 при инвитро условия като най-активни са екстрактите от черна боровинка с произход България и черна боровинка с произход Китай по отношение ентеро вирус CV-B1 и грипен вирус A/H3N2 съответно. Изследванията са детайлизирани и по отношение антивирусната активност на отделните фракции на базисните екстракти, като е установено, че антоциановите съединения инхибират репликацията на грипен вирус A/H3N2, а фенолните киселини, флаваноидните гликозиди и танините показват по-висока цитотоксична активност в сравнение с базовите фракции и антоцианите. По отношение антимикробната активност следва да се подчертаят представените данни за силната антигъбна активност (по отношение на *Candida albicans*) на фенолните киселини, флаваноидните гликозиди и танините, както и силната активност спрямо коли бактерии на екстракти от червена българска боровинка – резултати подсказващи потенциала на продукти от изследваните растения за приложение във фармацията, козметиката, като хранителни добавки или добавки в храните.

Особено добро впечатление прави добрата и достатъчна дискусия на получените резултати. Структурирането на заключителни бележки към отделните части в раздел „Резултати и обсъждане” ясно подчертава постигнатите резултати, а от друга страна показва точно върху какво трябва да се акцентира при следващите изследвания. Тази ясна, точна и задълбочена интерпретация на получените резултати за пореден път

подчертава нивото на докторант Динчева, както и добрата работа на нейната ръководителка.

Основните получените резултати от работата правилно са обобщени в 12 извода. Тук обаче докторант Динчева с лекота и скромност подминава резултатите, относно детайлната фитохимична характеристика и тези на анализа на главния компонент.

Публикациите във връзка с дисертацията са два броя – една в International Journal of Medecine and Pharmaceutical Science и една в Natural Product Communication. Резултати от дисертацията са представени с доклади на 4 и с постери на 6 международни конференции. За качеството на представената декларация говорят и откритите 4 цитата на публикация, свързана с дисертацията.

Основните приноси в дисертационния труд могат да бъдат класифицирани, както следва:

1. Обогастващи съществуващите знания:

- За пръв път е анализиран полифенолният състав на екстракти от плодове на червена и черна боровинка с различен произход. Дефинирани са връзките между надморската височина, географската ширина и количествата акумулирани полифеноли.
- Оценена е биологичната активност (антиоксидантна, антимикробна и противовирусна) на обогатени и пречистени фракции на екстракти от изследваните плодове.

2. Нови подходи, методи и технологии:

- Създаден е GC-MSметод за анализ на свързани и свободни фенолни киселини.
- Разработени са HPLC-UV методи за анализ на флаваноиди (флавоноли, флавонони и флавани) и антоцианидини.
- Разработени са LC-ESI-MS/MS методи за анализ на антоциани и проантоцианидини.

Забележки:

1. В изводите не са отразени важни части от дисертацията, упоменати в рецензията по-горе;
2. Данните относно разработването и валидирането на новите хроматографски методи представляват принадена стойност към познанието в областта на анализа на природни продукти и като такива следва да бъдат представени в раздела „Резултати и обсъждане”.
3. Многобройните приложения, представени в края на дисертацията ненужно я утежняват. Представената в тях информация частично е достъпна в различни бази данни.

Заключение: рецензираният труд отговаря по качество и надхвърля по обем изискванията за дисертация за придобиване на образователна и научна степен „Доктор”.

Публикуваните материали във връзка с дисертацията отговарят на наукометричните изисквания. Основните резултати са публикувани в престижни международни издания и са докладвани на международни научни форуми. Налице са и първите цитирания на публикация, свързана с дисертацията.

Въз основа на анализа направен до тук, с убеденост ще гласувам „За” и приканвам уважаемите членове на почитаемото жури да присъдим образователната и научна степен „Доктор” на инж. Ивайла Недялкова Динчева.

Пловдив

Септември, 2016 г.



чл.-кор. проф. д-н Атанас Павлов