

Рецензия

на дисертационен труд на тема:

„Получаване на композитни материали на основата на фиброин и изследване на тяхното *in vitro* поведение“,

представен от инж. Антоний Йорданов Колев

за присъждане на образователна и научна степен „доктор“ в професионално направление 5.10. Химични Технологии (научна специалност - Химична технология на влакнестите материали),

Факултет по химични технологии

Катедра „Текстил и кожи“

Химикотехнологичен и металургичен университет -София.

Научни ръководители: доц.д-р. Виолета Василева

доц.д-р. Лъчезар Радев

от проф. д-р инж. Маргарита Петрова Незнакова, Технически университет-София

Докторантът инж. химик Антоний Йорданов Колев завършва висшето си образование (магистърска степен) през 2008 г. в Химикотехнологичен и металургичен университет - София. Зачислен е като редовен докторант при катедра „Текстил и кожи“ по научна специалност 02.10.16 - Химична технология на влакнестите материали, на 01.04.2011 г. и е отчислен с право на защита със заповед Р-ОХ-186 от 02.03.2015 г.

1. Общо описание на представените материали и преценка на публикациите по дисертационния труд

Представената ми за рецензиране докторска дисертация е написана на 133 страници, от които 16 страници литература и една страница – списък на публикациите с участие на докторанта. Съдържа 47 фигури, една схема и 13 таблици. В приложение от 1 страница, поставено в началото на материала, преди съдържанието, са описани подробно използваните съкращения. Не е даден списък на заглавията на таблиците и фигурите. Цитирани са общо 182 литературни източника. Дисертационният труд е структуриран в пет основни главни части.

Литературният обзор I е в 8 части (общо 41 стр.) и представя кратко изискванията към материалите, прилагани в различни области на медицината - глава 1 (5 стр.). В глави 2 до 6 са описани подробно избраните за изследване: *Фиброин, получен от естествена коприна; Алгинат; Керамика-калциево-фосфатни керамики; Антибактериални и противовъзпалителни средства, в частност Ciprofloxacin и Колоидно сребро.*

Направените заключения от литературния преглед служат за основа на ясно поставени цели и задачи на дисертационния труд. В този раздел е демонстрирано добро познаване на обширната литература върху използването и свойствата на медицинските материали на основа фиброин.

Всички литературни източници са на латиница с изключение на един. Библиографията е съвременна, добре подбрана и проучена. В основната си част публикациите са от последните 5-10 години. Материалът е представен в стегната и критична форма. Онагледен е добре с 11 фигури, 1 таблица и 1 схема. Избрани са количествени аналитични модерни методи (FTIR, SEM, EDH, UV-VIS, ICP-AES) за анализиране и доказване на получените филми и макропорести структури. За определяне на биологичната активност за получените материали е подбран *in vitro* тест, с използване на разтвор, наподобяващ човешка кръвна плазма. Условиата за работа са взети от литературата (източници 135-136).

Литературният преглед завършва с формулиране на целта на дисертационната работа, а именно: Получаване на композитни материали на основата на фиброин в

комбинация на неорганични и органични добавки и изследване на техните *in vitro* отнасяния. Дефинирани са за решаване 4 задачи, чието изпълнение е дадено в глава III.

В глава II - Материали и методи (18 стр.), са приведени детайли за използваните апарати, реактивите и аналитичните методики, които са адекватни на поставените цели и задачи, за охарактеризиране и приложение на новите композитни/хибридни материали под формата на филми и макропорести структури. Дадени са съставът на изследваните SF/CPS композитни материали, на смесените филми и макропорести материали на основа натриев алгинат и копринен фиброин, както и на получени антибактериални макропорести смесени материали от фиброин/алгинат, съдържащи Ciprofloxacin и колоидно Ag. Съставите са представени таблично – таблици 1-6, и две фигури, едната от които представлява блок схема за получаване на калциев фосфат силикатна керамика (CPS). Подробно са дадени начините за получаване на готовите форми (филм или макропореста структура) и са описани методите за изследването им.

Приложени са съвременни методи, основно инфрачервена спектрофотометрия с Фурие преобразуване (FTIR), абсорбционна спектрофотометрия (UV/VIS), сканираща електронна микроскопия (SEM), индуктивно свързана плазмена атомна емисионна спектроскопия (ICP-AES). За определяне на биоактивността е използван тегловен *in vitro* тест, широко използван метод за определяне на антибактериалната активност за наличие на грам-отрицателни бактерии *Escherichia coli* (ATCC 25922) и грам-позитивни микроорганизми *Staphylococcus aureus* – (ATCC 25923).

Основна тежест в дисертационния труд има глава III "Резултати и обсъждане" (53 стр.), разделена на 4 подраздела, в която са изследвани, онагледени и обсъдени съставът и структурата на получените материали в зависимост от вида на втората компонента. Направеният анализ е на основа на снети ИЧ спектри. Прави се извод, че начинът на получаване на образците и вида на втората компонента съществено влияе върху структурата им, тъй като протичат ред конформационни промени. При изследване на получените композитни материали в състав фиброин и калциев фосфат силикатна керамика (глава III.1) се установява, че CPS стъкло-керамиката влияе съществено върху вторичната структура на фиброиновата молекула. SEM анализът на образците, преди и след *in vitro* теста, е в съответствие с получените резултати от FTIR изследването на композитните материали.

В глава III.2 - Композитни материали в състав фиброин/алгинат във вид на филми, са дадени условията на получаване на хибридни материали със състав копринен фиброин и натриев алгинат в различно тегловно съотношение на компонентите, във вид на филми. Те са получени чрез смесване. Направен е анализ отново на основата на резултатите от ИЧ спектроскопията. Сравнени са спектрите на чист фиброин и смесите с различно количество добавка на алгинат. Установено е, че между копринения фиброин и алгината се осъществява взаимодействие чрез водородни връзки между амидните групи на полипептидната верига и карбоксилните групи на алгината. Така се получават потвърдителни резултати по отношение на възможните взаимодействия между SF и други естествени полизахариди, като хитозан, целулоза, наблюдавани от други автори [113, 163-166]. Основните изводи от тази част на експерименталната работа са, че включеният алгинат в хибридният материал индуцира конформационни промени на фиброиновата макромолекула, както и че получените филми притежават биоактивност, в резултат на образуване на хидроксиапатит на повърхността им.

В следващата глава III.3. - Макропорести композитни материали в състав фиброин/алгинат, се спазва същата последователност на изследване: получаване, анализ на резултатите от инфрачервената спектроскопия и определянето на морфологията чрез SEM. Отново се изследват продукти, получени при различно съотношение на компонентите - копринен фиброин и алгинат. Прави се сравнение между макропорести структури от чист фиброин и смеси с алгинат. Сравняването на *in vitro* поведението на филмите и макропорестите хибридни материали показва диаметрално противоположно поведение – биоактивност и биоразграждане, обусловено единствено от различния морфологичен строеж. Един интересен извод, като се има предвид разликата в двата процеса.

Последната задача от проведената изследователска работа е получаване и охарактеризиране на макропорести биокompatibilни материали в състав SF/SA(75:25), съдържащи биоцидите Ciprofloxacin и Колоидно сребро (глава III.4). Получените материали са със състав SF/SA(75:25), съгласно описания метод за получаване в точка 3.1, като се добавя на Ciprofloxacin (антибиотик) и колоидно сребро във вид на водни разтвори. Антибактериалната активност е определена чрез два стандартни метода: за грам-отрицателни бактерии *Escherichia coli* - **ATCC 25922** и за грам-позитивни микроорганизми *Staphylococcus aureus* - **ATCC 25923**. Изследвани са три вида образци в състав SF/SA(75:25) и различна концентрация на Ciprofloxacin и колоидно сребро. Резултатите показват, че не се наблюдава промяна във вида на трите макропорести образеца - композит SF/SA(75:25) с Ciprofloxacin, чист композит SF/SA(75:25) и SF/SA(75:25) с колоидно сребро. Показано е, че получените макропорести композитни материали с включен в тях антибиотик и колоидно сребро проявяват антибактериална активност и към двата вида микроорганизми в изследваните концентрационни интервали. В резултат на проведените изпитвания се прави заключението, че антибактериалните макропорести материали притежават комплекс от свойства и могат да бъдат препоръчани като носители на лекарствени средства, прилагани за лечение на рани.

Общото ми впечатление от дисертационния труд и останалите материали: автореферат, 3 публикации в чужбина и две в България на английски език, е напълно положително. Върху първата статия е намерен 1 цитат в чуждо издание. Има добро съответствие между съдържанието и приносите, представени в дисертационния труд, автореферата и публикуваните статии. Няма самостоятелна работа. Съавтори на статиите са научните ръководители доц. В. Василева и доц. Л. Радев. В първата и третата статия са включени и колеги от други звена, с които е осъществено научно сътрудничество.

2. Актуалност на разработвания в дисертационния труд проблем в научно, научно-приложно и приложно отношение.

Разработваните в дисертационния труд проблеми се извеждат пряко от основната цел - получаване на композитни материали на основата на фиброин и изследване на тяхното *in vitro* поведение.

Докторантската работа засяга един актуален въпрос - получаване на нови материали с медицинско предназначение за контакт с живия организъм. През последните години се търсят специализирани биосъвместими материали, които формират ново направление в медицинското материалознание – разработка на материали, свързани с реконструктивната хирургия и биоизкуствени органи.

Актуалността на разработения в дисертационния труд проблем в научно-приложно и приложно отношение се определя преди всичко от възможностите, които предоставя използването на природни екологично чисти продукти с полезни свойства. В резултат са: Получени композитни материали със състав фиброин/калциев фосфат силикатна керамика и е изследвано тяхното *in vitro* поведение; Получени са материали със смесен състав фиброин/алгинат, във вид на филми и макропорести структури и е изследвано на тяхното *in vitro* поведение; Получени са антибактериални материали в състав фиброин/алгинат, съдържащи биоцидите Ciprofloxacin и колоидно Ag.

Целта на дисертационния труд е поставена коректно на основата на собствения опит (на научните ръководители) и на опита на водещи изследователи и фирми, които работят в областта.

Приемам за обосновано, предвид сложността на изследваните процеси, изследването да се води в двете основни направления: Първото се определя от изучаването на композитни материали в състав фиброин/калциев фосфат силикатна керамика и второто изследване на структурата на материалите със смесен състав фиброин, алгинат и антибактериални продукти от вида Ciprofloxacin и колоидно Ag.

Всяка от конкретно дефинираните задачи показва познаване на състоянието на поставения проблем и способността на докторанта да оценява творчески съществуващите източници на информация.

3. Съответствие на избраната методика на изследване с поставената цел и задачи на дисертационния труд

За решаване на поставените задачи е приложен разностранен набор от съвременни апарати и методи на изследване, съобразен с наличната материална база на обучаващото звено. Възприетата методика за изследване като цяло е реалистично и правилно подбрана с оглед на решаването на поставените цели и задачи. Доказателствена стойност имат условията за провеждане на експериментите, експерименталните резултати и описанието на изследваните образци. Считаю, че поставените цели и задачи в дисертационния труд са успешно изпълнени.

4. Научни, научно-приложни и приложни приноси на дисертационния труд

Представените в края на работата изводи много добре отразяват резултатите от проведените изследвания. Получени са оригинални и потвърдителни резултати. Приносите на дисертационния труд са описани отделно от изводите и точно отразяват същността на дисертационния труд.

Основните приноси на дисертационния труд са четири:

1. Получени са хибридни материали в състав фиброин/алгинат в различни тегловни съотношения, във вид на филми, без допълнително третиране с алкохол. Протичащите конформационни и структурни промени, както и междумолекулни взаимодействия, се обуславят единствено от природата на полимерите.

2. Резултатите от *in vitro* изследването в 1.5 SBF по същество разграничават композитни материали с еднакъв химичен строеж и състав, но с различен морфологичен строеж: филмите проявяват биоактивност, докато макропорестите материали се разграждат.

3. Анализът на инфрачервените спектри на получените филми при различни рН условия дава основание да бъде подкрепена тезата за образуването на междумолекулни водородни връзки между NH групите от -CONH- на фиброина и COOH на алгината, в условията на получаването им.

4. Изследването на получените макропорести биокмполитни материали, съдържащи Ciprofloxacin и колоидно сребро, показва, че е възможно трайното му задържане в матрицата и постепенното му отделяне във времето, което прави този вид биоматериал подходящ за носител на лекарствени средства.

5. Автореферат

Представеният автореферат е написан на 46 страници, съдържа 3 таблици и 20 фигури и напълно съответства на съдържанието на дисертационния труд. В него докторантът е представил основните изводи от литературната справка, които мотивират поставянето на целта и задачите на дисертацията, методиката на експеримента и основните експериментални резултати за различни структури на основа копринен протеин. Дадени са основните изводи, приноси, списък на научните публикации по дисертационната работа и забелязаните цитати. Съдържанието на дисертационния труд е представено точно и ясно. Включени са най-важните фигури и таблици, доказващи основните резултати от изследването. Авторефератът дава достатъчно пълна представа за съдържанието и приносите на дисертационната работа. Той е направен съгласно изискванията и отразява правилно съдържанието на дисертацията.

6. Оценка на степента на лично участие на докторанта в приносите

Запознаването с представения материал, както и познаването на научните публикации по него, не оставят място за съмнение, че дисертационният труд и приносите в него са с активното участие на докторанта. Той е на първо място в три от представените публикации, което доказва това.

7. Забележки и препоръки

Част от моите забележки и пожелания към представения автореферат, направени по време на предварителната защита и изготвеното от мен предварително становище, са коректно отразени в представените окончателни варианти на дисертационен труд и автореферат.

Към докторанта имам следните забележки, препоръки и въпроси:

1. Считаю, че приносите на дисертационния труд имат научно-приложен и приложен характер, поради което би било добре те да се разделят, тъй като това би допринесло за определяне на оригиналността на проведеното изследване.

2. По-коректно е получените филми и макропорести структури от органични полимери - копринен протеин/алгинат, да се наричат „хибридни“ или със „смесен състав.“

3. На стр. 30 е представена схема за взаимодействието между фиброин и полизахариди, която би трябвало да се даде на български, независимо че е взета от проучената литература [16]. Има също така фигури, чиито означения също са на английски език, а би било добре да са само на български.

4. Говори се за синтезиране чрез смесване, без да се посочват конкретните условия на синтеза - температура, pH, времетраене, разбъркване и т.н., поради което остава впечатление, че не се касае за реален синтез.

Въпроси:

1. Защо не са използвани SEM снимките за определяне на размера на порите и тяхното разпределение?

3. Защо не е измерена скоростта на отделяне на лекарственото средство?

Направените забележки, препоръки и поставени въпроси в никаква степен не намаляват общите впечатления от прецизно и добросъвестно проведената експериментална работа и направената задълбочена дискусия върху получените резултати. Те повече имат смисъл на препоръки за развитие на бъдещите изследвания на колектива. Представеният дисертационен материал е написан на добър научен език и в него личи задълбоченото мислене на докторанта.

8. Заключение

От изложеното дотук мога да направя заключението, че представените резултати в дисертационния труд по обем и качество напълно отговарят на изискванията на Правилника за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ХТМУ, Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за приложение на ЗРАСРБ, както и да препоръчам на уважаемото жури да присъди на инж. маг. Антоний Йорданов Колев образователната и научна степен „доктор“ в професионално направление 5.10. Химични Технологии (научна специалност - Химична технология на влакнестите материали),

София,

06.03.2017 г.

Рецензент:



(проф. д-р инж. Маргарита Незнакова)