

## РЕЦЕНЗИЯ

от доц. д-р Антоанета Борисова Трендафилова,  
Институт по органична химия с център по фитохимия, БАН

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор' по професионално направление „Химически науки“, шифър 4.2, научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества“

**Автор:** асистент Надежда Стоянова Костова

**Тема:** Алкалоиден състав на видове от род *Senecio*

**Научен ръководител:** доц. д-р Веселин Христов

### 1. Общо описание на представените материали

Със заповед № РД-09-305 от 17.12.2018 г. на Директора на Институт по органична химия с център по фитохимия (ИОХЦФ) - БАН съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема „Алкалоиден състав на видове от род *Senecio*“ за придобиване на образователната и научна степен ‘доктор’ по научна специалност 01.05.10. „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества“. Автор на дисертационния труд е асистент Надежда Стоянова Костова – докторантка на самостоятелна подготовка с научен ръководител доц. д-р Веселин Христов. Представеният от ас. Надежда Костова комплект материали на хартиен носител е съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ИОХЦФ, включва следните документи:

- молба до Директора на ИОХЦФ за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд;
- автобиография в европейски формат;
- копие от диплома за висше образование (ОКС ‘магистър’)
- заповеди за зачисляване и отчисляване в докторантура;
- протоколи от успешно положени изпити по индивидуален план на обучение;
- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък и копия на научните публикации по темата на дисертацията;
- списък на забелязани цитирания.

Документите са добре оформени и подредени.

### 2. Кратки биографични данни за докторанта

Надежда Костова е завършила висше образование в Софийски университет „Св. Климент Охридски“, Химически факултет, София през 2002 г. Придобива магистърска степен по специалност „Органична и аналитична химия“. През следващите години 2002-2008 г. работи като химик-специалист в лаборатория „Химия на природните вещества“ в ИОХЦФ-БАН, а от 2008 г. е назначена като асистент в същата лаборатория. Ас. Надежда Костова е съавтор на 23 научни публикации, които са цитирани 55 пъти. Тя активно участва в 5 проекта към ФНИ, 5 проекта по линия на ЕБР с Монголската Академия на Науките, ръководител е на младежки проект, финансиран от ФНИ, а в момента е участник в международен проект по програма Хоризонт 2020 на ЕК, H2020-MSCA-RISE-2015. Тя е

също ръководител на 5 специализанта по линия на студентските практики (Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси 2007-2013 г.” и „Наука и образование за интелигентен растеж 2014-2020 г.”).

### **3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи**

Фитохимичните изследвания са били и продължават да са важни, тъй като 80% от населението на планетата използва растенията за лечение и профилактика. Противно на популярното схващане, че лечебните растения са безопасни и имат по-малко странични ефекти, отколкото синтетичните лекарства, са открити медицински растения, които са токсични както за човека, така и за животните. Токсичността на тези растения се дължи на съдържащите се в тях съединения, между които на първо място са пиролизидиновите алкалоиди. Този клас природни съединения се среща в представители от семействата Asteraceae, Boraginaceae, Fabaceae, Orchidaceae и Arocynaceae. Най-голям брой пиролизидинови алкалоиди са идентифицирани във видове от род *Senecio* (Asteraceae), които са обект и на настоящия дисертационен труд. Установено е, че попадайки в организма пиролизидиновите алкалоиди претърпяват метаболитна активация и проявяват токсичен ефект, свързан предимно с увреждане на черния дроб, а 1,2-ненасетените им производни – канцерогенен ефект. Растенията от род *Senecio* често се срещат край насаждения с житни култури и така те могат да попаднат във фуражи и храни, които да застрашават човешкото здраве. Това налага създаването на надеждни и чувствителни методи за скрининг, за идентифициране и количествено определяне на пиролизидинови алкалоиди в растителни суровини. Във връзка с това, може да се каже, че тематиката е актуална и осъзната от докторантката. Това личи както от добре структурирания литературен обзор, така и от акцентите на проведената от нея експериментална работа. Целта на дисертацията е дефинирана в две направления – изследване на алкалоидния състав в представители на род *Senecio* и намиране на хемотаксономични връзки между установения алкалоиден състав и разпределението на видовете според Флора на Европа.

### **4. Обща характеристика и оценка на дисертационния труд**

Дисертационният труд на ас. Надежда Костова съдържа 87 страници в основната си част, 1 схема, 10 фигури и 12 таблици. Библиографската справка обхваща 95 литературни източника. Приложенията са с обем 9 страници. Дисертацията е добре подредена и структурирана, отговаря на изискванията на чл. 27. от ППЗРАСРБ и съдържа: Въведение, Цели и задачи, Литературен обзор, Собствени изследвания, Експериментална част, Обобщение на резултатите, Използвана литература. Приложения, Приноси, Списък на публикации по темата и забелязани цитати. В обособените основни раздели докторантката представя задълбочено постигнатото в областта на пиролизидиновите алкалоиди и в род *Senecio* до момента, описва използваните методи за работа и анализ, както и интерпретира с разбиране получените резултати в изпълнение на формулираните цели и задачи.

**Литературен обзор:** Литературният обзор е написан на 28 страници. Подробно са описани структурата, класификацията и разпространението на пиролизидиновите алкалоиди. Представена е подробна информация за пиролизидиновите алкалоиди идентифицирани досега в род *Senecio* със съответните структури и литературни източници. В методите за анализ са описани мас-спектрометрията и ЯМР спектроскопията като основни методи за структурни изследвания на този клас вторични метаболити със съответните характеристични масспектрални фрагментации,  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР данни на отделните типове алкалоиди –  $\text{C}_9$ - и  $\text{C}_7$ - моноестери, на ациклични, циклични и

макроциклични диестери и на отонецинов тип бази. Представени накратко са също аналитичните техники за качествено и количествено определяне, биосинтеза и токсичността на пиролизидиновите алкалоиди. Литературният обзор показва подготвеността и компетентността на докторантката в областта на химията на пиролизидиновите алкалоиди и методите за техния анализ. Анализиранията литература е коректно цитирана.

**Експериментална част:** В експерименталната част (18 стр.) е представена схема за разработване на растителния материал, описани са апаратурата и условията за извършване на ГХ/МС и ЯМР анализи, както и използваните хроматографски техники за разделяне ТАС, получени от различните видове *Senecio* и изолиране на индивидуалните съединения и са представени данните (МС, ЯМР, ъгъл на въртене, и др.) за охарактеризиране на новите съединения.

**Собствени изследвания:** Всички резултати са представени и дискутирани в отделните части от раздела „Собствени изследвания“ (27стр.), които логично следват хода на решаването на поставените задачи. В част II.3.1. са описани резултатите от ГХ/МС анализ на алкалоидните смеси от 13 вида и един подвид от род *Senecio*, растящи в България. По-специално внимание е отделено на охарактеризирането на новите за съответния растителен вид съединения чрез техните мас-спектрални данни и времена на задържане. В част II.3.2. се разглеждат пиролизидиновите алкалоиди, изолирани от видове *Senecio*. От общо 21 изолирани съединения, 3 са новооткрити природни съединения, едно се намира за първи път в изследвания вид, а десацетилдоронин (**41**) се описва с пълни спектрални данни. В тази част докторантката се е концентрирала върху използването на ЯМР спектроскопия за идентифициране на новите съединения в комбинация с мас-спектралните данни като показва задълбочени познания в тази област. Част II.4. са представени резултатите от количественото определяне на сенецифилин в *S. repens* чрез ТСХ в комбинация с денситометрия като бърз, сигурен и лесен метод, приложим и за други алкалоидни смеси. В част II.5. наречена „Еволюция“ резултатите от изследванията на алкалоидния състав на видовете от род *Senecio*, разпространени в България са използвани за търсене на връзки и зависимости в разпределението им по секции според „Флора на Европа“, както и на наблюдаване на еволюционни тенденции в развитието им чрез изчисляване на т. нар. еволюционен фактор и степен на окисление на алкалоидите. В тази част докторантката е показала умения при тълкуване на експерименталните данни и като резултат предлага ново разпределение на видовете в род *Senecio*.

Обобщението на резултатите от проведените изследвания ас. Надежда Костова е формулирала кратко и ясно в 9 извода.

## **5. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката**

Основните приноси в дисертационния труд могат да се формулират като научни и научно-приложни. Фундаменталният за мен принос на дисертацията е идентифицирането на 36 пиролизидинови алкалоида в 13 вида и един подвид от род *Senecio*, от които 13 са нови за съответните видове, 4 са новооткрити природни съединения, а един алкалоид е изолиран и спектрално охарактеризиран за първи път. Друг важен научен принос е новият хемотаксономичен подход за изследване на видовете от род *Senecio* въз основа на алкалоидния им състав и съответно новото разпределение на видовете в рода. Предложеният ТСХ-денситометричен метод за определяне на сенецифилин има както научен, така и научно-приложен характер и би могъл да се използва за количествено определяне на токсични алкалоиди в род *Senecio*.

## 6. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Резултатите от дисертацията са публикувани в четири научни публикации: в поредицата "Recent Progress in Medicinal Plants", Nat. Prod. Res. (IF 0.572, Rank Q<sub>3</sub>), J. Ser. Chem. Soc. (IF 0.423, Rank Q<sub>4</sub>), и Bulg. Chem. Commun. Докторантката е на първо място в една от статиите и на второ – в останалите три, което потвърждава нейното съществено участие в изработването на експерименталната работа и обработването на резултатите по дисертацията. Открити са и 22 цитирания на публикациите, свързани с дисертацията.

## 7. Оценка на автореферата

Авторефератът съдържа 33 страници, направен и според изискванията и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

## 8. Критични забележки и препоръки

Имам няколко дребни бележки относно неточности и технически грешки в дисертационния труд. Според мен Схема 1 и Таблица 12 трябва да бъдат преместени в „Собствени изследвания“. Схема 1 отразява принципа на разработване на растителния материал, а Таблица 12 съдържа характерните мас-спектрални фрагментации на идентифицираните алкалоиди, които се дискутират именно в „Собствени изследвания“. Липсват газ-хроматограми на изследваните видове, а те биха показали нагледно сходството и различията между отделните видове. При описанието на мас-спектрите в условията на химична йонизация е прието да се изписва  $[M+H]^+$ , а не  $[M+1]^+$ . Забелязани са и някои несъответствия в константите на спиново взаимодействие. Например, геминалните константи на H-5<sub>u</sub> и H-5<sub>d</sub> (13.2/13.0 Hz) и H-9<sub>u</sub> и H-9<sub>d</sub> (11.0/11.1 Hz) в Таблица 4 (стр. 42), както и на H-3<sub>u</sub> и H-3<sub>d</sub> (17.1/16.9 Hz), H-9<sub>u</sub> и H-9<sub>d</sub> (12.1/12.2 Hz) в Таблица 7 (стр. 48) трябва да бъдат еднакви. В Таблица 4 (стр. 42) сигналите за H-13 (1.71 m) и H-14<sub>u</sub> (1.28) са отбелязани като припокриващи се, а те не биха могли да си припокриват. Подобни различия има и в таблиците, включени като приложения. На стр. 44 при описване на спектралните данни на съединение **59** някои константи на спиново взаимодействие са дадени до втория знак след десетичната запетия, а в Таблица 5 – до първия знак. Има частично повторение на мас-спектралните данни в Таблица 12 и в Експерименталната част. Дисертационният труд е написан много стегнато и ясно като цяло, но в Експерименталната част процедурата на изолирането на индивидуалните съединения е твърде кратко описана и би затруднила възпроизвеждането на процедурата. Предполагам, че посочените неточности и технически грешки се дължат най-вече на невнимание и бих искала да отбележа, че те не повлияват като цяло отличното ми впечатление от качеството на работата на докторантката и научното ниво на дисертационния труд.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ИОХЦФ-БАН. Дисертационният труд показва, че докторантката Надежда Костова притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения в областта на химията на алкалоидите, които умело съчетава със съвременни ГХ/МС и ЯМР методи за тяхното идентифициране и хроматографски методи за тяхното изолиране. Убедена съм, че докторантката има безспорен принос в извършените

изследвания и получените резултати. Познавам ас. Надежда Костова от постъпването ѝ в ИОХЦФ-БАН и имам отлични впечатления от нейната работа.

Въз основа на анализа направен до тук, с убеденост давам положителна оценка за научната и изследователска работа на асистент Надежда Костова и съм съгласна да ѝ бъде присъдена образователната и научна степен „доктор“ по професионално направление 4.2. „Химически науки“, научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“.

22.01.2019 г.

Рецензент: .....

(доц. д-р Антоанета Трендафилова)