

РЕЦЕНЗИЯ

от Силвия Йорданова Атанасова-Стамова, дф

Катедра „Фармацевтична химия“ при Факултет по Фармация,

Медицински Университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“-Варна

Външен член на научно жури за Медицински Университет-Пловдив (съгласно Заповед №Р-2121/23.12.2024 на Зам. Ректора по НИД на Медицински Университет -Пловдив)

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор', професионално направление 7.3. Фармация, докторска програма „Фармацевтична химия“

Автор: маг.-фарм. Велислава Тодорова

Форма на докторантурата: редовна подготовка

Катедра: Фармакогнозия и фармацевтична химия

Тема: Фармакоаналитичен контрол на субстанции с адаптогенни свойства от *Rhaponticum carthamoides* Willd.

Научен ръководител: доц. Калин Валентинов Иванов, дф – Медицински университет - Пловдив

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен /електронен носител е в съответствие с чл.70 (1) от I.Раздел. Придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“ и научна степен „ДОКТОР НА НАУКИТЕ“ в МУ-Пловдив; Правилник на МУ-Пловдив от 28.01.2021 г. и включва следните документи:

- Заявление до Ректора на МУ-Пловдив за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд
- автобиография в европейски формат с подпис на докторанта
- нотариално заверено копие от диплома за висше образование
- заповеди за записване в докторантура, прекъсване на обучението (поради майчинство) и за продължаване на обучението; за отчисляване с право на защита
- заповед за провеждане на изпит от индивидуалния план и съответен протокол за издържан изпит или докторантски минимум по специалността
- протокол от катедрен съвет за предварително обсъждане на досертационния труд и взетите решения за разкриване на процедура и за състав на научно жури
- дисертационен труд
- автореферат
- списък на научните публикации по темата на дисертацията
- копия на научните публикации
- списък на участията в научни форуми
- списък на забелязани цитирания

- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи
- други документи, свързани с хода на процедурата

Докторантката е приложила три публикации. Всички представени от докторанта документи са в пълно съответствие с Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Република България, както и в съответствие с процедурата за придобиване на ОНС „Доктор“ в Медицински Университет – Пловдив.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Велислава Димитрова Тодорова – завършва ОКС „магистър“ специалност Фармация в Медицински университет – Пловдив през 2020 г.; От 2020 г. до настоящия момент работи като асистент по Фармацевтична химия и фармацевтичен анализ в катедра „Фармакогнозия и фармацевтична химия“ на Фармацевтичен факултет при Медицински университет – Пловдив; От 2021 г. е редовен докторант към същата катедра; През май 2024 г. придобива специалност „Анализ на лекарствените продукти“. За 2024 г. е носител награда Питагор за млад учен в областта на науките за живота и медицината.

Със Заповед на Ректора на МУ-Пловдив от Р-2368/17.12.2021 г. Велислава Тодорова е зачислена на редовна докторантура в катедра „Фармакогнозия и фармацевтична химия“ на Фармацевтичен факултет на МУ-Пловдив, а със Заповед Р-1574/29.11.2024 г. е отчислена с право на защита.

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

През последните десетилетия адаптогените представляват изключителен интерес за съвременната наука, което се дължи на свойствата им да нормализират функциите на организма и да го укрепват в условия на стрес. Въпреки постоянния синтез на нови молекули интересът към съединения от природни източници продължава да е изключително висок, тъй като голяма част от тях се очертават с висок терапевтичен потенциал. Съвременните тенденции в търсене на възможности за модулиране на процеси като стареене, повлияване на затлъстяването и наднорменото тегло определят обекта на настоящия дисертационен труд, фармакокинетичния контрол на субстанции с адаптогенни свойства от *Rhaponticum carthamoides* Willd. Адаптогените биха могли да се разглеждат като потенциални агенти за модулиране на тези процеси благодарение на своите свойства за подобряване на устойчивостта към стрес и поддържане на хомеостазата. Сред първите класифицирани адаптогени е *Rhaponticum carthamoides* (левзезя), растение, ендемично за района на Сибир, с дълбоки традиции в народната медицина. Левзезята съдържа екидестероиди-стероиди с

различни биологични ефекти, като стимулиране на протеиновия синтез, подобряване на защитните свойства, физическата издръжливост и други. Исторически изследванията върху левзея започват през XX век в Русия, въпреки това интересът към терапевтичния ѝ потенциал остава висок и в наши дни, особено за процеси като стареене, затлъстяване и надноремно тегло, тъй като изследванията на адаптогените в тези области са ограничени.

В тази връзка настоящия дисертационен труд предлага стратегии за охарактеризиране и оценка на потенциала на *Rhaponticum carthamoides* в тези области, които представляват сериозно предизвикателство в нашето съвремие и безспорно определят актуалността на зададената тема.

4. Познаване на проблема

Докторантката Велислава Тодорова е изготвила подробен систематичен преглед на съвременната научна литература, свързана с адаптогените, екдистероидите и аналитичните подходи за тяхното изследване, което демонстрира задълбочено познаване на проблема. Тя е представила подробен и изчерпателен литературен обзор с обем от 49 страници, който е структуриран в 4 глави. В първата глава са описани ботаническите характеристики и фитохимичния състав на ключови растения с адаптогенни свойства като подробно са разгледани и техните биологични свойства. Във втора и трета глава са описани основните фитоекдистероиди като 20-хидроксиекдизон, туркестерон, и понастерон А, с акцент върху тяхната структура, свойства, въздействие върху организма, както и са подробно разгледани конкретни растения, съдържащи 20-хидроксиекдизон. В последната глава са представени настоящи аналитични методи за изследване на екдистероиди, включително тънкослойна хроматография, високоефективна течна хроматография, и газова хроматография.

Литературният обзор е логично организиран и предлага цялостен преглед на съвременните научни постижения, свързани с изследването на адаптогените и техния терапевтичен потенциал, което доказва добрата теоретична подготовка и познаване на проблема от докторанта. Актуалните тенденции и предизвикателства в изследванията върху *Rhaponticum carthamoides* и подобни растения са внимателно анализирани и задълбочено оценени, което ги превръща в основа на дисертационния труд.

5. Методика на изследването

Избраните методики за изследване на *Rhaponticum carthamoides* и нейните биоактивни вещества изглеждат подходящи и съвместими с поставената цел на дисертационния труд. Те обхващат широк спектър от подходи – от морфологичен анализ до високотехнологични аналитични методи и биологични тестове, което гарантира комплексност и надеждност на

результатите. Разработени и валидирани са методи за охарактеризиране на извлечените етерични масла от *Rhaponticum carthamoides* (диворастяща и култивирана популация) чрез високоефективна тънкослойна хроматография (НPTLC) и високоефективна течна хроматография с UV-Vis детектор (HPLC). С цел постигане на по-добро качество на анализа и по-висока ефективност, представеният HPLC метод е доразвит и адаптиран за използване с LC-PDA-MS, като същевременно е разработен и валидиран допълнителен LC-MS метод. Извършена е оценка и анализ на антиадипогенните свойства на екстракт от *Rhaponticum carthamoides*, 20-XE, ПС и ТС чрез *in vitro* модел с човешки адипоцити. Освен това е приложена методика за оценка на влиянието на *Rhaponticum carthamoides* и 20-XE върху процесите на стареене и продължителността на живот при *C. elegans*.

Методиките за всяка от техниките са описани в детайли и с голяма прецизност. Докторантката е усвоила разнообразие от специализирани техники, които са ефективно използвани, което гарантира надеждността и високото качество на получените резултати.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Представеният дисертационен труд е оформен съгласно изискванията към дисертационните трудове на Медицински Университет-Пловдив. Работата съдържа 178 страници като данните са онагледени с 24 таблици и 39 фигури. Цитирани са 387 литературни източника, 170 от които са през последните 10 години, а 114 през последните 5 години. Цитирани са и web сайтове на EMA и WADA с актуална информация. Данните са онагледени с 24 таблици и 39 фигури. Дисертацията включва следните глави: Съдържание – 3 стр., Използвани съкращения – 2 стр., Въведение – 2 стр., Литературен обзор – 49 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материали и методи – 16 стр., Резултати и обсъждане – 58 стр., Заключение – 2 стр., Изводи – 1 стр., Приноси – 1 стр., Списък на публикации свързани с дисертационния труд – 2 стр., Използвана литература – 38 стр..

Структурата на различните глави е добре организирана и логично подредена. Целта на дисертационния труд е ясно формулирана, а за нейното постигане са определени седем задачи. Използваните материали и методи са детайлно описани. Резултатите и обсъждането им съставят основната част от труда като те са представени с висока прецизност и точност. Експерименталните резултати следват реда на поставените задачи и са проведени в следните направления:

- Извършена е структурна оценка на растителните материали чрез микроскопските наблюдения за определяне на хистолокализацията на секреторни структури в

корените и коренищата на изследваните диворастящи и култивирани проби от *Rhaponticum carthamoides*.

- Проведеният газ хроматографски анализ (GC-MS) на извлеченото етерично масло от двете популации на диворастяща и култивирана *Rhaponticum carthamoides* установява различие в химичния им състав.
- Разработеният метод за високоефективна тънкослойна хроматография (HPTLC) за анализ на растителни екстракти от *Rhaponticum carthamoides* е ефективен метод за качествено и количествено определяне на компоненти в растителни проби. Използваната техника дава възможност за детайлно изследване на химичния състав на растителни екстракти, като осигурява точни и надеждни резултати чрез валидиране спрямо международни стандарти.
- Разработеният метод за високоефективна течна хроматография с UV-ViS детекция (HPLC) предоставя възможност за надежден анализ на растителни екстракти от *Rhaponticum carthamoides* и други фармакологично активни, съдържащи например 20-ХЕ, ПС, ТС. Процедурата е оптимизирана чрез използване на градиентен режим на работа по отношение на подвижната фаза, което повишава разделителната способност и детекцията на отделните компоненти в пробата.
- Разработеният метод LC-MS метод за количествено определяне на 20-ХЕ, ПС, ТС в растителни екстракти е с висока прецизност, точност и чувствителност. Методът показва устойчивост и стабилност при съхранение на проби от изследваните растителни екстракти, което го прави подходящ при научни изследвания на посочените компоненти.
- Изследването на антиадипогенния потенциал на екстракт от *R. carthamoides*, 20-ХЕ, ПС и ТС при *in vitro* модел на човешки адипоцити се основава на оценка на техния ефект върху адипогенезата и липолизата. Въз основа на използването на клетъчни култури и различни биологични тестове, е проведен скрининг на тези съединения за тяхната активност по отношение намаляване натрупването на липиди и стимулиране на липолизата. Тези изследвания могат да послужат за основа за разработване на нови природни средства за борба със затлъстяването и метаболитни нарушения.

- Изследването оценява ефекта на екстракт от *Rhaponticum carthamoides* и 20-хидроксиекдизон върху жизнеността и стареенето на модела *Caenorhabditis elegans*. Проведени са тестове за подвижност, хемосензорна активност и устойчивост на термичен стрес, които показват значителни подобрения при използваните нематоди. Резултатите подчертават противостареещите свойства на тези природни съединения, като доказват повишаване на оцеляването и реакцията към стресови фактори. Изследването предлага ценен принос към разбирането на биологичните механизми на стареене и демонстрира потенциал за приложение в терапиите за удължаване на живота и подобряване на здравето.

В резултат на извършените експериментални задачи са формулирани седем извода. Те са точни, логични и обобщават цялото многообразие от получените данни. Посочени са осем приноса.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Приносите на дисертационния труд, представени от докторантката са 8 на брой, като могат да бъдат разделени на 3 с научно-теоретична стойност и 5 с научно-приложен характер. Към приносите с научно-теоретична стойност спадат извършеното за първи път хистохимично локализиране на секреторни канали и липидни натрупвания в корени и коренище на *Rhaponticum carthamoides*. За първи път е извлечено и охарактеризирано етерично масло от *R. carthamoides*, култивирано в България, като за първи път е определено и количественото съдържание на 20-ХЕ, ТС и ПС в него.

Особено внимание заслужават приносите с научно-приложен характер. Създадени са бързи и високочувствителни аналитични методи за идентификация и анализ на 20-ХЕ, ТС и ПС, а именно разработени са НРТLC метод за определяне на 20-ХЕ, ТС и ПС в растителни екстракти, НРPLC-UV метод, за анализ на 20-ХЕ, ТС и ПС в растителни екстракти и ХД, LC-PDA-MS метод за анализ на 20-ХЕ, ТС и ПС в растителни екстракти. Установена е антиадипогенна активност на екстракт от *R. carthamoides* и 20-ХЕ при SGBS клетки. Установено е положително влияние на *R. carthamoides* върху стареенето и продължителността на живота при *C. elegans*.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Във връзка с процедурата по защита на дисертацията си, Велислава Тодорова представя 3 публикации с IF, с общ брой цитирания 58 без автоцитатите. Докторантката е първи автор на всички представени публикации. Участвала е в 4 международни конференции, на които е

представила част от научните резултати по темата на дисертацията си. Водещ изследовател е на 1 научен проект .

9. Лично участие на докторантката

Считам, че приносите на дисертационния труд, са в значителна степен дело на докторантката, осъществени, под компетентното ръководство на научния ѝ ръководител доц. Калин Валентинов Иванов, дф. Личният принос на Велислава Тодорова се потвърждава от факта, че тя е първи автор във всички представени публикации и в три от участията в научни форуми.

10. Автореферат

Авторефератът напълно съответства на изискванията, заложи в правилника на Медицински Университет-Пловдив. В него кратко и ясно са представени постигнатите резултати. Авторефератът е оформен в 53 страници, като съдържа 11 таблици и 19 фигури. От съдържанието му се добива ясна представа за поставените цели, формулираните задачи, получените резултати, тяхното обсъждане, както и изводите и приносите на дисертационния труд.

11. Критични забележки и препоръки

Дисертационният труд е написан на много добър научен език, с ясна структура, задълбоченост и интересен подход. Поради високата стойност на проведените изследвания и приложените материали, нямам критични забележки или препоръки относно дисертационния труд.

12. Лични впечатления

Не познавам лично докторантката Велислава Тодорова, но при изготвянето на рецензията и след запознаване с биографичните ѝ данни, силно впечатление ми направи, че тя е носител на награда за принос в науката „Питагор“ за млад учен в областта на науките за живота и медицината, 2024 г. Този факт е безспорно доказателство за високите ѝ професионални качества и умения.

13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Приносите и резултатите от дисертационният труд предлагат много възможности за бъдещи изследвания и приложения в различни научни области. Продължаването на изследванията върху антиадипогенната активност на екстракта от *R. carthamoides* и 20-XE е основа за създаване на иновативни терапевтични подходи. Методите за анализ могат да се

приложат към други растения, съдържащи подобни химични съединения, разширявайки базата данни за тях. Усъвършенстването на методите за изследване на липидния метаболизъм е важно за разкриване на механизми при метаболитни заболявания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката* и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на МУ - Пловдив. Представените материали и дисертационни резултати **напълно** съответстват на специфичните изисквания на МУ – Пловдив.

Дисертационният труд показва, че докторантката Велислава Димитрова Тодорова **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност „Фармацевтична химия“ като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен ‘доктор’** на Велислава Димитрова Тодорова в докторска програма по „Фармацевтична химия“.

06. 01. 2025 г.

Рецензент: доц. Силвия Йорданова
Атанасова-Стамова, дф

/.../

Заличено на основание
Чл.5 §1, 6. “В” Регламент (ЕС)2016/679