

Вх. № 679 / 18.10.19г.

РЕЦЕНЗИЯ

От проф. д-р Росица Замфирова
Ръководител на направление „Биологични ефекти на природните и синтетични
вещества“ – ИНБ, БАН

Относно дисертационен труд, насочен за публична защита за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ в област на висше образование Област 7. Здравеопазване и спорт, 7.1. Медицина, научна специалност „Фармакология“ на докторант Алмира Павлова Георгиева на тема „Сравнителен фитохимичен анализ и биологични активности на ароматични продукти от българските маслодайни *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill.“

Научни консултанти: доц. Милка Милева, дф
доц. Албена Александрова, дб

Процедура на обявяване на публичната защита

Алмира Павлова Георгиева е зачислена за докторант на самостоятелна подготовка по научната специалност „Фармакология“ в ИНБ на БАН със заповед № 250 /27.06.2015 г. на Директора на института и е отчислена с право на защита със заповед № 561/30.07.2019 г. Работата на асистент Георгиева е обсъдена и одобрена на разширен Научен колегиум на направление „Биологични ефекти на природни и синтетични вещества“. На заседание НС на ИНБ, състояло се на 29.07.2019 г., е разкрита процедура за защита на докторантката и е избрано Научно жури за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“ по научна специалност „Фармакология“. Със заповед № 722/25.10.2019 г. на Директора на ИНБ за провеждане на защитата е назначено НЖ. На неговото първо заседание, състояло се на 18.11.2019 г., бяха избрани председател на НЖ и рецензенти на докторантския труд.

За изготвяне на рецензията докторант Алмира Георгиева е представила изискуемите материали (дисертация, автореферат, публикации, автобиография). Рецензията е изготвена съгласно изискванията на ЗРНСРБ, Правилника за неговото приложение и Правилника за прилагането му в ИНБ-БАН.

Биографични данни на кандидата

Алмира Павлова Георгиева се дипломира в ХФ на СУ "Св. Кл. Охридски" през 1991 г със специалност „Неорганична и аналитична химия“ В ИНБ, БАН. започва работа през 2001г. в лаборатория „Свободно – радикални процеси“ като специалист, а от 2014 като асистент. През 2016 г. е зачислена като докторант на самостоятелна подготовка. За целия период на работа в ИНБ, БАН е съавтор на 31 статии.

Предоставеният ми за рецензия дисертационен труд е написан на 156 стандартни машинописни страници. Съдържа както следва: 2 стр. въведение, 44 стр. литературен обзор, цел и задачи - 1 стр., материали и методи - 18 стр., резултати - 37 стр., дискусия - 22 стр., изводи и приноси - 2 стр., библиография – 21 стр. Броят на фигурите е 32, на таблиците – 14, 4 снимки и 1 схема.

Актуалност на дисертационния труд

Дисертационният труд е посветен на изследване фармакологичния потенциал на типично български феномен – маслодайната българска роза, известна по целия свят като идентификационен символ на българската фитотерапевтична школа от древността до наши дни. В този смисъл темата на дисертационния труд е изключително актуална. Това е добре изтъкнато във въведението, като е наблегнато върху тревожния факт за все по-нарастващата антибиотична резистентност, тежките и продължителни вътреболнични инфекции, с всички предсказуеми и отерочени рискове от тях за човешкото здраве. Този проблем е визиран от СЗО - ежегодно нараства процентът на антимикробна резистентност към клинично прилаганите антибиотици, което от своя страна представлява сериозна заплаха за общественото здраве и води до увеличение на разходите за здравеопазване. Много често острите бактериални и вирусни инфекции рецидивират в хронични, а те във възпалителни процеси и онкологични заболявания. Затова и изборът на адекватни модели за профилактика и терапия на бактериални, гъбични и вирусни инфекции е от изключителна важност. По данни на СЗО, около 80% от населението на света разчита вече на лекарства с растителен произход за своята първична здравна помощ (Farnsworth et al., 1985; Arvigo et al., 1993). Това не бива да ни учудва, тъй като, както четем в дисертацията на ас. Алмира Георгиева, цитирам: Употребата на лекарствени растения е толкова древна, колкото е и човечеството (Pamukoff, 2017).

Дисертацията добре описва предимствата на комплементарния подход в съвременната медицина и обосновава мястото на фитотерапията като комедикация в основни терапевтични и профилактични схеми.

В последните десетилетия се наблюдава огромен научен интерес към етеричните масла у нас и в световен аспект поради безспорните им ценни фармакологични качества. Благоприятните климатични и почвени условия нареждат България на първо място сред страните в Европа и на шесто място в света по събиране, отглеждане, преработка и износ на лечебни растения и билки (Doncheva, 2016).

Изключително добро впечатление прави обобщението на богатия **литературен обзор**, в края на който е точно формулирано основанието за проведените изследвания.

Изтъкнато е, че съставът на ароматичните продукти (АП), получени от преработката на розите, зависи от генотипа на розата, епигенетичните фактори на околната среда и условията за дестилране и получаване на АП.

Описани са изследванията на други автори върху биологичните активности на масло от *Rosa damascena* Mill. и в по-малка степен от *Rosa alba* L., от насаждения в различни географски райони, като се подчертава, че данните за състава и свойствата на АП от българските рози са откъслечни и недостатъчни.

Става ясно, че до момента съществуват редица опити за интродуциране на *Rosa alba* L., но единствено в България, в Казанлъшката долина, съчетанието от почва и климат благоприятстват отглеждането ѝ за промишлено производство на етерично масло с високо качество, оценено в търговските регистри като „кралско, рядко, скъпоценно“. Това предава особен акцент на настоящия труд, в който се сравняват биологичните активности на продуктите от *Rosa alba* L. с тези на *Rosa damascena* Mill., която е стандартизирана и приета за еталон (Сертификат по ISO 9842/2003, Женева, Швейцария).

Изчерпателният литературен обзор е база за адекватно формулиране на научната цел и произтичащите от нея задачи за комплексни и целенасочени изследвания с цел сравнително охарактеризиране на химичния състав и биологичните активности на ароматичните продукти от българските маслодайни *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill., с оглед на потенциалното им фармакологично приложение.

Оригинален и логичен е подходът за изучаване на различни АП, техния състав и биологични свойства: розово масло, хидрозол и абсолю от споменатите растителни видове.

В глава „Материали и методи“ експерименталният материал е много добре описан и класифициран, дадени са произходите на бактериалните, вирусните, гъбичните и клетъчните щамове, химикали и реагенти. Правилно подбрани и точно охарактеризирани са близо 20-те експериментални метода, доказващи широкия мащаб и мултидисциплинарността на настоящата работа. Докторантката се е съобразила с направената препоръка на апробацията за математическо моделиране на количествената оценка на инхибиращите ефекти на комбинациите между нистатин и розовите масла върху радиалния растеж на *Aspergillus flavus*. На стр. 91 е поместена Таблица 11, която илюстрира получените резултати от анализа съгласно Теорията на комбинационния анализ. Използваният модерен подход е актуален и точен.

В Резултатите са описани и се сравняват хроматографския профил на АП от *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill., съдържанието на феноли в тях, както и биологичната им активност- антибактериално, антифунгаално, антивирусно и антиоксидантно действие.

Прави много добро впечатление онагледяването на получените резултати. Всички таблици, фигури и схеми са точни и лесни за възприемане от читателя, поради добрата подредба и оформяне на легендите под тях. Това е особено важно при сравняването на много различни параметри едновременно.

Обсъждането следва хода на полученото в експериментите. То е ясно, конкретно, подходящо са включени подкрепящи резултати на други изследователи. Това говори за добра информираност на докторантката, разкрива способността ѝ да се ориентира правилно в многото получени собствени данни и логически да ги свързва с такива от литературата. Въпреки, че в работата не се изследват механизмите, по които различните АП осъществяват ефектите си (това не е цел на изследването), в обсъждането умело използвайки публикуваното от други колективи, авторката дава най-вероятното обяснение за пътищата, по които се реализира това действие.

А. Георгиева съумява да извлече най-значимото от получените от нея резултати и да го обобщи в **приноси и изводи**. Те са логично произтичащи и добре формулирани. Правят впечатление 5 приноса с оригинален характер и 3 с потвърдителен характер.

1. За първи път е направен сравнителен фитохимичен анализ и са изследвани и сравнени биологичните активности на ароматичните продукти от българските *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill.
2. За първи път е установен антихерпес вирусен ефект на маслата от *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill. в моделна система с MDBK клетки чрез проследяване на вирусологични и биохимични параметри - понижение на вирусния титър и овладяване на вирус-индуцираните оксидативни промени.
3. За първи път е проведено изследване на антивирусните ефекти на маслата от *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill. върху панел от 5 вируса, причиняващи сериозни здравословни проблеми: Вирус херпес симплекс тип 1 (HSV-1), представител на сем. *Herpesviridae*; Коксаки вирус В1 (щам Connecticut) (CV-B1), представител на род *Enterovirus* на сем. *Picornaviridae*; вирус на мукозната болест - вирусна диария по телетата (BVDV) и сурогатен хепатитен вирус С, представители на сем. *Flaviviridae*; трипен вирус А - A/Aichi/68/H3N2, представител на сем. *Orthomyxoviridae*; респираторно-синцитиален вирус (RSV), представител на сем. *Paramyxoviridae*.
4. За първи път е показано, че комбинацията нистатин и *Rosa alba* L. има адитивен ефект срещу *Aspergillus niger*, а комбинацията нистатин и масло от *Rosa damascena* Mill. - срещу *Aspergillus flavus*.
5. За първи път е тестван антиоксидантният ефект на хидрозоли от рози чрез комплекс от *in vitro* методики и е установено, че хидрозолите са добри уловители на хидроксилни и супероксидни анион радикали и са в състояние да предотвратят метал-индуцирана липидна пероксидация в яйчни липозоми. Тези данни предполагат, че хидрозолите от двете рози могат да имат добър протективен ефект в условия на оксидативен стрес *in vivo*.

Препоръки:

Като давам много висока оценка на тематиката, подобрите експериментални методи, проведените сравнителни изследвания, вложените усилия и труд както от страна на докторантката, така и от научните консултанти, бих искала да отправя и някои препоръки за по-доброто оформяне на този дисертационен труд, имащ висока научна и, силно вярвам, бъдеща практическа стойност. Докторантката се е съобразила с направените на предзащитата забележки. Приложеният адекватен метод за математическо моделиране

на количествената оценка на инхибиращите ефекти на комбинациите между нистатин и розовите масла върху радиалния растеж на *Aspergillus flavus* за съжаление не е отразен нито в изводите, нито в приносите на настоящия труд. Това е сериозно достойнство, което заслужава да бъде отбелязано.

Авторефератът дава пълна представа за извършената работа, като акцентира върху най-приносните резултати от изследването.

ОЦЕНКА НА КРИТЕРИИТЕ В СЪОТВЕТСТВИЕ СЪС ЗРАСРБ И ПРАВИЛНИК ЗА ОБУЧЕНИЕ НА ДОКТОРАНТИ НА ИНБ – БАЦ.

Във връзка с дисертационния труд, докторантката представя 4 научни публикации (32,85 т.), от които три са в списания с импакт-фактор. На едната от тях тя А. Георгиева е първи автор. На тези публикации до настоящия момент са забелязани 8 цитата.

От представените ми материали по процедурата е видно, че е събран необходимият брой точки (252,85 т.), в съответствие със ЗРАСРБ.

Заключение:

Представеният ми за рецензия дисертационен труд представлява интересно и оригинално сравнително изследване на биологичните активности на АП от българските рози.

Изключително важен е фактът, че освен етеричните масла, за първи път са проведени изследвания на ароматичния продукт розов хидрозол от двете рози и е установено инхибиране на фунгиалния растеж на *Trichoderma*, *Penicillium chrysogenum* и *Alternaria*. Хидрозолът на *R. damascena* Mill. е ефективен и срещу *Aspergillus fumigatus*. При концентрации над 50% хидрозоли от двете изследвани рози инхибират бактериалния растеж и на *Staphylococcus epidermidis*, като хидрозолът от *R. damascena* Mill. е двойно по-ефективен. Считаю за ценна и находката за антистрептококовата активност на хидрозоли от двете рози, което ги прави потенциални кандидати в терапевтичната практика за коригиране на дисбаланса на човешкия микробиом.

Оригинален е резултатът, че розовите масла повлияват положително състоянието на оксидативен стрес, индуцирано от HSV-1 в MDBK клетки.

Маслото от *R. alba* L. проявява по-добре изразени антихерпесвирусни свойства от маслото на *R. damascena* Mill., отчетени чрез степента на нормализиране на маркерите за оксидативния стрес до стойности близки до тези на контролните, неинфектирани клетки.

Наблюдаваните протективни ефекти на маслата при преинкубация на клетките-гостоприемници на херпесния вирус са доказани както с вирусологични, така и с биохимични тестове. Мултидисциплинарният подход на експерименталния дизайн е предпоставка за високата достоверност на получените резултати.

Всичко това ми дава основание да оценя положително представения дисертационен труд и да предложа на уважаемото Научно жури да присъди образователната и научна степен "Доктор" по научна специалност "Фармакология" на докторант Алмира Павлова Георгиева.

18.12.2019 г.
София


проф. Росица Замфирова, дб