

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. дхн Славчо Кирилов Раковски от ИК БАН

**ОТНОСНО:** участие на доцент д-р Весела Денева Кънчева (Кортенска) в конкурс за заемане на академичната длъжност „професор“ по професионално направление 4.2 Химически науки, научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества“ за нуждите на Лаборатория „Химия на липидите”,

Институт по органична химия с Център по фитохимия - БАН, обявен в ДВ бр. 94/17

Доцент д-р Весела Денева Кънчева (Кортенска) е единствен участник в настоящия конкурс.

Доцент д-р Весела Денева Кънчева (р.1952), завършва техникума по индустриална химия (1971) с отличие, ВХТИ – София (1976) с отличие, защитава докторска дисертация (1997) и е избрана за доцент (2005). Има общ трудов стаж по специалността 41+12 (след 2005) Служи си с 4 езика – английски, руски, немски и полски.

Участва в конкурса с общо 86 публикации в т.ч.: 12 глави в монографии и книги; 57 в международни списания с импакт фактор; 2 учебни помагала; h индекс - 13; цитати 443, след 2005 – 40 бр.; Публикациите, включени в конкурса за „професор“ са общо 50, в т. ч. в списания с импакт фактор – 33 (тр. 31-63); глави от монографии – 8 (тр. 64 - 71); списания без импакт фактор – 7 (тр. 72 - 78); учебни помагала – 2 (тр. 79, 80) и невяклучени в конкурса за „професор“ – 6 (тр. 81 – 86). Участията с доклади на международни и национални научни форуми на доц. Кънчева са общо 111: 37 устни доклада (докладва 26). За периода след 2005 година има общо 63 доклада: 29, изнесени от Кънчева – 20, като поканен лектор - 19. Тя участва общо в 48 проекта, като е ръководител на 15. В международно сътрудничество участва в общо 22 проекта, като е ръководител на 10.

Обучение: докторанти – 1 защитил. Лектор е на спец курсове за докторанти и дипломанти общо 6 бр. Получила е следните награди и отличия: Първа награда като студентка на Научната сесия на ТНТМ – 1975 (ВХТИ); Златна значка “За отлично учение” на Комитета за Наука, Технически Прогрес и Висше Образование, 1975г. и ЦК на ДКМС като студентка във ВХТИ – София (1975); Парична награда за участието в Първото изложение “Българската младеж и нейната дума за технологиите на бъдещето”, ТНТМ, Пловдив (1987); Оригинална работа (1987), (2000), (2002), (2005), (2009), (2010), (2014), (2015), (2017) и др.

Участва в Постоянна научно-експертна комисия (ПНЕК) по двустранно сътрудничество към ФНИ-МОН, 2013- 2016, Временна научно-експертна комисия (ВНЕК) „Нови материали и технологии“ към ФНИ-МОН - 2014., Временна научно-експертна комисия (ВНЕК) „По акция на програма COST“ към ФНИ-МОН 2015 - 2016, оценител – 2015 г.

Член е на Съюз на химиците в България – от 1982, Съюз на учените в България – от 2001, Българско фито-химично дружество – от 2014 Deutsche Gesellschaft fuer Fettwissenschaft - от 2002, European Federation for Lipid Science and Technology - от 2002, EFSA – European Authority Food Safety - от 2010.

Взела е участие в серия изложби. Съавтор е на литературни обзори и библиографски справки.

Наукометричните показатели са в пълно съответствие с правилника на ИОХ с ЦФ при БАН. Тя изследва кинетиката и механизъм на липидно окисление и стабилизация в зависимост от структурата и дизайна на антиоксиданти и техни композиции. В литературата е установено, че свободно радикаловите процеси водят до увреждания на клетките и се свързват с патогенезата на огромен брой заболявания като ракови, сърдечно-съдови, астма, артрит, Паркинсон, Алцхаймер, деменция и др. като във всички случаи това е свързано с изменение в скоростта на липидното окисление.

В тр. 66, 67, 71 се изследва оксидативния стрес, образуването на свободни радикали и липидното пероксидно окисление (ЛПО) и е направен анализ на ролята на ендогенните и екзогенни медиатори, включени в окислителните процеси *in vivo*. Обсъдена е кинетиката и механизма на липидно окисление, включващо изомеризация на липидните пероксидни радикали и разпадането на липидните хидропероксиди до свободни радикали (тр. 67). Оценено е влиянието на различни структурни и физични фактори и е направено компютърно моделиране, за изясняване на ролята на про- и антиоксидантно действащите компоненти.

В тр. 68, 71, 74,79 и 44 е оценена окислителната стабилност на липидите и получените резултати са използвани като параметър за контрол на качеството им. Чрез изследване на кинетиката на липидното автоокисление се дава обективна и комплексна оценка за стабилността на липидите. Изяснено е влиянието на а) типа и степента на ненаситеност на липидните субстрати; б) типа мастни киселини, - дали са естери на метанол или глицерол; в) синергисти; г) съединения, способни да образуват комплекси с антиоксиданта; д) присъствието на прооксиданти, и е) присъствието на сурфактанти.

Трудове 36, 53, 57-59, 69 са свързани с повишаване окислителната стабилност на липидите, чрез добавка на инхибитори. *Carthamus Lanatus L* е растение, което има важно фито-фармакологично значение

поради съдържанието на флавоноиди. Намерено е, че екстрактите и фракциите от това растение значително повишават окислителната стабилност на липидите. Сапониновата фракция на *Tribulus terrestris* е богата на стероидни сапоници и флавоноиди и притежава висок капацитет да улавя свободни радикали и да инхибира окислителния процес. В съставът е доказано наличието на флавоноиди: кверцетин, кампферол, изорамнетин, техни 3-О-глюкозиди и рутинозиди и новооткритите 3-О-р-куароилглюкозиди на кампферола и изорамнетина. Извършен е сравнителен анализ на зависимостта структура-активност (тр. 59, 69). Различни екстракти и фракции от черен пипер, червено чили, и от лечебните растения мариголд и каранджа, също показват висок ефективност при улавяне на свободни радикали и инхибиране на липидното автоокисление (тр. 53, 56, 69).

Предложено използването на полимерни нано-мембрани за екстракция на около 40 растения с фармацевтично приложение. Чрез реализирането на "хибридна екстракция" са подбрани 50 фенолни съединения, които са изолирани от природни източници (лечебни растения, прополис, подправки и др.) с широк спектър на хидрофилно-липофилен баланс, биологична активност и/или антиоксидантна активност (тр. 75). Изучена е възможността за повишаване на окислителната стабилност на липиди от екстракти на ленено семе (тр. 40, 45, 47). Установено е, че тоталното фенолно съдържание нараства с около 10% след алкална хидролиза. Установено е, че основният продукт - секоизоларицирезинол диглюкозид, не е ефективен инхибитор на липидното автоокисление. Неговият агликонов метаболит (секоизоларицирезинол), обаче показва висока антиоксидантна активност. Намерени са малки количества паракумарова и ферулова киселини (тр. 47).

Изследван е ефекта на гама облъчването върху окислителната стабилност на липиди (тр. 33, 35, 43, 77). Установено е, че окислителната стабилност и мастно-киселинният профил на телешко месо се променят след облъчване с гама лъчи в различни дози. Доказано е, че облъченото месо е с понижена окислителна стабилност, като ефектът се засилва с увеличение на дозите на облъчване (тр. 77).

При облъчване на български чайовете с умерени дози гама лъчи, антиоксидантният им капацитет не се понижава. (тр. 33, 43). Направен е сравнителен анализ на етанолни и водни екстракти на изследваните чайове преди и след облъчване с гама лъчи. Наблюдавано е, че мащерката след облъчване показва по-висок антиоксидантен потенциал (тр. 33, 43). Фенолният профил на етанолни екстракти на мащерката (*Thymus serpyllum* L.) (тр. 35) съдържа 32 фенолни съединения, от които 12 са идентифицирани като производни на хидроксibenзоената и хидроксиканелената киселини, флаволи и флаванони. Доказано е и наличието на тимол. Най-високо е съдържанието на кафеената, розмариновата и хлорогеновата киселини, както и на лутеолин и лутеолин-7-О-глюкозид. Установено е, че гама облъчването не води до качествени промени във фенолният профил на мащерката.

На моделиране на кинетиката на липидното окисление са посветени тр. 63, 68, 76, 62. Обобщени са резултатите, получени през последните 20 години за кинетиката и механизма на липидното окисление в присъствие на прооксиданти, антиоксиданти и сърфактанти (тр. 68). Изведени са кинетични модели, описващи липидното окисление в инициран и автоокислителен режим, за неинхибиран и инхибиран процес, за метиллинолеат при умерени температури (тр. 47, 68). С помощта на такива модели е доказана значимостта на реакцията на хомодиспропорциониране на фенооксилните радикали, водещо до регенериране на изходната молекула на фенолните антиоксиданти. Доказано е, че делът на тази реакция е много по-значим в условия на липидно автоокисление в сравнение с инициран режим на процеса. Това е много интересен резултат, защото дава възможност да се изясни механизма на действие на различни фенолни антиоксиданти в хода на липидното автоокисление. Предложени са оригинални модели, описващи кинетиката на натрупване и разпадане на липидните хидропероксиди самостоятелно и в присъствие на прооксиданти като разпадането на линолеатните хидропероксиди протича по псевдомолекулен механизъм (тр. 63, 68).

Изучен е ефекта на различни повърхностно-активни вещества (ПАВ) върху кинетиката и механизма на липидното окисление. Установено е, че катионните ПАВ действат като прооксиданти като ускоряват разпадането на липидните хидропероксиди до свободни радикали, докато анионните ПАВ проявяват инхибиращ ефект (тр. 62, 68, 78).

Изследвано е влиянието на природни ПАВ върху инхибирано липидното окисление. Основно внимание е обърнато на нейногенни ПАВ (октадеканол, монопалмитоил глицерол и дипалмитоилглицерол) върху антиоксидантната ефективност на инхибиторите (алфа-токоферол, кафеена киселина и бутилхидрокситолуен) по реакция с пероксидните радикали. Установено е, че нейногенните ПАВ понижават антиоксидантната ефективност на инхибиторите и увеличават скоростта на натрупване на липидните хидропероксиди. Получените резултати свидетелстват за това, че нейногенните ПАВ, подобно на катионните, водят до увеличение на скоростта на инициране на свободни радикали в окисляемия липиден субстрат. Сравнителният анализ показва, че ефектът на ПАВ по степен на понижението на антиоксидантната ефективност при липидното окисление корелира с относителното нарастване на хидрофилността на антиоксиданта (тр. 62, 68, 78).

Изучена е кинетиката на образуване на прави и обърнати мицели в присъствие на кверцетин, рутин и ПАВ (цетилтриметиланониевхлорид, СТАС) (тр. 54, 62, 68). Доказано е, че кверцетинът се изразходва 10 пъти по-бързо от рутина в системи на обърнати мицели на хидропероксиди и катионен сърфактант, а при прави мицели (във водна среда) съответно 4 пъти по-бързо от рутина. Показано е, че

скоростите на изразходване на кверцетина и рутина не зависят от изходните концентрации на флавоноидите, което е в сила, когато се улавят всички образувани в системата свободни радикали. Установено е за първи път, че молекулите на кверцетина и рутина са локализиращи предимно в периферията на мицелите (тр. 76).

Изучена е зависимостта на био-антиоксидантната ефективност от структура им. Представени са получените през последните 13 години по-важни резултати на зависимостта структура антиоксидантна активност на общо 154 фенолни съединения: 50 кумаринови производни, 39 аналози на куркумин, 4 бензоксантенови и неолигнани, 6 хидрокси-халкона, 15 флавоноида, 25 производни на фенолни киселини, 6 стандартни антиоксиданти (токоферол, бутилхидрокситолуен, хидрохинон, третбутилхидрохинон, резвератрол, розмаринова киселина), 6 хидролизуеми танина. В (тр.47) е изследвана връзката между структурата и антирадикаловата, антиоксидантна активност и полезния ефект за здравето на хората на познати и нови фенолни био-антиоксиданти (каротеноиди, катехоламини, фосфолипиди, халкони, кумарини, фенолни киселини, флавоноиди, лигнани и танини)

Изследване на кумаринови производни (тр. 32, 46, 50, 51, 55, 65, 69, 70, 73). Природният кумарин не притежава антиоксидантна и биологична активност. В сътрудничество с проф. Пармар от Университета в Делхи, Индия са получени кумаринови производни на основата на кумарин с разнообразна антиоксидантна и биологична активност. Представен е сравнителен анализ на общо 50 кумарина (10 природни и 40 техни синтетични аналози) и е изучена зависимостта структура-антирадикалова, антиоксидантна и биологична активност чрез прилагане на различни комбинации от експериментални и теоретични подходи. Получените резултати дават възможност за дизайн на нови кумаринови производни с очаквана антиоксидантна и антирадикалова активност (тр. 65). Доказан е структурният фрагмент, отговорен за антиоксидантната активност на кумарините и е показано, че не броят, а взаимното разположение на фенолните групи, е от значение за антиоксидантната активност. Потвърдено е, че наличието на катехолова структура има съществена роля за високата антиоксидантна активност като резултат от възможното регениране на дихидроксикумарините по реакция на хомо-диспропорциониране на семихиноновите им радикали (тр. 32, 46, 50). Доказано е, че заместителите в пириновия пръстен не оказват съществено влияние върху антиоксидантната активност, но имат съществена роля за разнообразната биологична активност (тр. 32, 46, 50).

За първи път е проследена цялостната кинетика на реакцията между кумариновите производни и DPPH радикала и са определени скоростните константи на серия 4-метил-заместени кумарини и техните стехиометрични коефициенти (показващи колко радикала загиват от една молекула инхибитор). Получените нови резултати дават възможност да се изясни механизма на действие на кумариновите производни и да се изведат реакционни схеми, описващи наблюдаваните ефекти (тр. 32). По-високата антирадикалова активност на 7,8-дихидрокси-4-метил-кумарините е обяснена със солватация ефект на разтворителя. Ангажирането на двете фенолни групи във вътрешно-молекулни водородни връзки при 7,8-дихидрокси заместените кумарини ги прави по-стабилни спрямо ефекта на разтворителя в сравнение с 6,7-дихидрокси-4-метил-кумарините, при които едната фенолна група е свободна и нейната активност се понижава от образувания комплекс с разтворителя (тр. 32, 51). Установено е наличието на Лекарствено подобие за изследваните кумаринови производни като е приложено „Правило 5” на Липински, което определя дали дадена молекула е подобна на известно лекарство (тр. 51). Направена е оптимизация на геометрията на неутралните молекули на кумариновите производни и съответните им моно- и бирадикали с помощта на теорията на функционала на плътността (тр. 32, 46).

Въз основа на намерената много добра корелация между теоретичната и експериментална антиоксидантна активност са предложени структурите на нови три кумаринови 4-метилзаместени производни, за които е изказана хипотезата, че ще проявят същата антиоксидантна активност като тези без заместители в пириновия пръстен. След синтезът им това е потвърдено (тр. 32, 46).

Изследване на бис-кумарини (тр. 32, 50,55, 47). За първи път е изследвана антирадикаловата и антиоксидантна активност на 5 ново синтезирани бис-кумарина, производни на 4-хидроксикумарина, с потенциална анти-СПИН активност. Доказано е, че структурният фрагмент, отговорен за антиоксидантната активност на бис-кумарините е бензеновото ядро и заместителите в него, а не 4-хидроксикумарина. Последният не инхибира липидното окисление (тр. 32, 46).

На изучаването на куркумин и негови синтетични аналози са посветени (тр. 37- 42, 44, 48, и 72). За първи път са представени експериментални и теоретични данни за оценка на антирадикаловата и антиоксидантна им активност в безводна и водна среда включващи общо 39 синтетични аналога на куркумина, като от тях 18 са C2 симетрични хидроксилирани бифенили (димери), 17 са съответните им мономери и 4 са ново синтезирани куркуминоиди. От мономерите само 8 са новосинтезирани, останалите 9 са познати природни био-антиоксиданти (ферулова киселина, евгенол, креозол, ванилин, апоцианин, тимол, карвакрол, резорцинол, цингерон). Направен е и сравнителен анализ на получените резултати с тези на стандартни антиоксиданти – куркумин, алфа-токоферол, тролокс (водоразтворим аналог на токоферола) и аскорбинова киселина (тр. 48, 37-42, 44, 47, 48). Представена е комплексна оценка на антирадикаловия и антиоксидантен потенциал на мономерите и димерите. С три метода - липидно автоокисление, хемилуминисцентен метод и квантово-химични изчисления е доказано, че няма значение как са свързани двата еквивалентни структурни фрагмента в структурата на куркумина и на димера на дехидроцингерона за

антиоксидантната им активност (тр. 42). За първи път са определени скоростните константи на реакцията при инхибирано окисление с хемилуминисцентен метод и е доказано, че димерите са 2-2.5 пъти по-активни от мономерите спрямо пероксидните радикали. За първи път са определени скоростните константи и стехиометричните константи на реакциите между DPPH радикала и мономерите и димерите, синтетични аналози на куркумина, което дава възможност да се изясни механизма на тяхното антирадикалово действие и да се изведат нови реакционни схеми, описващи наблюдаваните ефекти (тр. 37,38,42, 48). Доказано е, че бифенилният фрагмент има по-съществена роля за антиоксидантната активност в сравнение със страничната верига (тр. 37, 38, 42). Удължаването на страничната верига не води до повишаване на антиоксидантния капацитет (тр. 47). Получените резултати показват, че замяната на –COOH (при феруловата киселина и нейният димер) с –COCH<sub>3</sub> (при дехидроцингерона и неговия димер) води до увеличаване на антиоксидантния потенциал на двойката мономер/димер. И тук наличието на катехолова структура има ключова роля за многократно по-високата антиоксидантна активност в сравнение с метоксифенолите (тр. 42).

Изследвана е кинетика на реакцията на куркумин и негови синтетични аналози с DPPH• радикала. Установено е, че енолната форма на 4-метилкуркумин е приблизително 24 пъти по-активна от 4,4-диметилкуркумин и 3 пъти по-активна от куркумина. По-високата реактивоспособност на 4-метилкуркумин в сравнение с куркумина може да се дължи на факта, че метилната група има по-нисък йонизационен потенциал и следователно свободна енергия на електронния трансфер. Освен това метилната група може да има стабилизиращ ефект върху енолния радикал (тр. 41).

Изучаването на хидрокси-халкони е изследвано в (тр. 52, 47, 66, 67, 68, 69, 70). Хидрокси халконите са биологични прекурсори на флавоноидите. Подбрани са 6 новосинтезирани хидрокси халкона 3,4-дихидрокси-халкон, 2-хидрокси-3-метокси-халкон, 3-хидрокси-4-метокси-халкон, 2-хидрокси-халкон, 3-хидрокси-халкон и 4-хидрокси-халкон.. Активността им е сравнена с тези на кафеена, ферулова и р-кумарова киселини, които има сходни структурни фрагменти в молекулите си с тези на хидрокси-халконите (тр. 51). За първи път е показано, че 3,4-дихидрокси халконът е по-силен антиоксидант от кафеената киселина. Орто-метокси заместените халкони проявяват умерена активност спрямо пероксидните радикали, подобно на феруловата киселина. Монохидроксизаместените халкони показват слаба активност, подобно на *p*-кумаровата киселина.

С помощта на хемилуминесцентен метод е установена неklasическа кинетика на халконите в реакция с моделни пероксидни радикали при иницирано окисление. За 3,4-дихидрокси халкона и кафеената киселина са установени високи стойности за скоростните константи и в същото време ниски стойности за стехиометричните им коефициенти. Изказана е хипотезата за възможността феноксилните /ароксилни радикали да присъединяват кислород с последваща циклизация и образуване на диоксидетани. С помощта на кинетични и теоретични модели тази хипотеза е потвърдена и е доказано, че сложният механизъм на действие на хидрокси халконите се дължи на това, че едновременно с антиоксидантно действие, те проявяват и прооксидантно, дължащо се на образуването на диоксидетани (тр. 51, 66).

Изучаването на бензо[*kl*]ксантенови лигнани и дихидробензофуранови неוליгнани е предмет на (тр. 49, 47). За пръв път е изследван потенциала на новосинтезирани по биомиметичен подход бензоксантенови лигнани и дихидробензофуранови неוליгнани да улавят свободни радикали и да инхибират верижно-радикаловия автоокислителен процес на липиди. Комбинирането на получените резултати за скоростната константа и стехиометричния коефициент дават възможност да се изясни механизма на тяхното действие. Получена е отлична корелация между експерименталните и теоретични резултати за лигнаните с най-висока и най-ниска антирадикалова и антиоксидантна активност (тр. 47).

В трудове 47, 56, 58, 59, 69 са изследвани флавоноиди–агликони, глюкозиди, рутинозиди, паракумароилглюкозиди, изолирани от растенията *Carthamus lanatus L.* и *Tribulus terrestris*. Изучена е зависимостта на 16 флавоноида – 5 агликона, 6 глюкозида, 3 рутинозида и 2 кумароил-глюкозида. Най-високата антирадикалова активност на кверцетина и неговите производни може да се обясни с възможното образуване на орто- и пара-хиноидни флавоноиди като резултат от диспропорционирането на семихиноновия радикал, образуван в пръстен В и регенериране на изходната молекула. Доказано е, че в случай на наличие на катехолова структура в пръстен В, останалата част от молекулата не оказва влияние върху способността да се улавят свободни радикали. Ниската антирадикалова активност на кампферола и изорамнетина, съдържащи захарен остатък (глюкоза, рутиноза и /или *p*-кумароил-глюкоза), е обяснена със заместването и на двете позиции 3 и 3'-ОН. При този случай съединенията не могат да се окислят нито до *o*-, нито до *p*-хинони.

В трудове 34, 47, 56, 60, 61, 67-69, 70, 72 са изследвани фенолни киселини (производни на бензоената и канелената киселини) и киселинни амиди. Потвърдено е и тук, че наличието на катехолова структура има ключова роля за високата антиоксидантна активност. 3,4-Дихидрокси-бензоената и галовата киселини показват най-висок антиоксидантен капацитет, последвани от сирингова (3,5-диметокси), ванилова (3-метокси) киселини. Пара-бензоената киселина не е инхибира липидното автоокисление. Канелени киселини - срещат се в различни растителни материали и се считат за биологични прекурсори на халконите и кумарините. Антиоксидантният потенциал на подбраните *p*-кумарова, ферулова, синапова и кафеена киселини е установено, че намалява в реда кафеена > синапова > ферулова > *p*-кумарова киселини.

Потвърдено е и тук, че структурният фрагмент, отговорен за високата антиоксидантна активност, е наличието на катехолова структура в молекулата на кафеената киселина (тр. 47, 56, 67, 68, 69, 70).

Сравнителният анализ на феруловата киселина и нейни производни: изоферулова киселина, метилферулат, етилферулат и конифериллов алдехид показва, че те проявяват активност, подобна на тази на феруловата киселина, единствено при изо-феруловата киселина тя е значително по-ниска. Получените резултати показват, че решаващ структурен фрагмент за антиоксидантната им активност е орто-метокси фенолната (гваяколовата) част, а не заместителите в страничната верига. Изоферуловата киселина показва по-слаба активност поради отсъствие от резонансно стабилизиране на феноксилния радикал, включващо и страничната верига (тр. 34).

Девет киселинни амиди, 6 производни на феруловата киселина и 3 на синаповата са изследвани в процес на липидно автоокисление. Доказано е, че новосинтезираните киселинни амиди на феруловата и на синаповата киселини проявяват антиоксидантна активност, подобна на тази на феруловата и синаповата киселина. Производните на синаповата киселина проявяват по-силна активност от тази на феруловата. Следователно, и тук структурният фрагмент, отговорен за антиоксидантния потенциал е бензеновото ядро и заместителите в него, докато страничната верига не оказва съществено влияние. (тр. 60, 61).

Прогнозира се структурата на нови синтетични аналози на природни био-антиоксиданти на база получените резултати от зависимостта структура-активност чрез прилагане на различни комбинации от кинетични, спектрални, хроматографски и теоретични подход (тр. 56, 69, 80).

Нови антиоксидантни композиции на база еквимоларни двойни смеси. Създадени са общо 57 нови антиоксидантни композиции на база двойни смеси в отсъствие (тр. 17) и в присъствие на алфа-токоферол (тр. 40).

Двойни смеси без алфа-токоферол. Установено е за първи път, че еквимоларни двойни смеси на флавоноиди: два агликони (кверцетин+лутеолин), агликон и гликозид/рутинозид (кверцетин+рутин) и два 7-О-глюкозида на кверцетин и лутеолин, изолирани от лечебното растение *Carthamus lanatus L.* не проявяват синергизъм между компонентите, като ефектът не се променя с повишение на концентрацията. Наблюдавано е, че двойните смеси от кверцетин+лутеолин и при двете изследвани концентрации проявяват по-висока антиоксидантна активност от тази на лутеолина, но по-ниска от тази на кверцетина. Двойните смеси кверцетин+рутин проявяват почти 6-кратно по-висока антиоксидантна ефективност от тази на рутина, но приблизително 2.2 пъти по-ниска от тази на кверцетина, добавен самостоятелно. Не се наблюдава синергизъм между кверцетина и рутина в двойните смеси при окисление в хомогенна липидна среда (тр. 58).

Показано е, че куркуминът проявява многократно по-висока антиоксидантна активност от двойните смеси на разпадните му продукти: ферулова киселина+ванилин, ферулова киселина+дехидроцингерон и от тройната смес ферулова киселина+дехидро-цингерон+ванилин. (тр. 39).

Установено е, че сместа на С2 симетрични хидроксилирани бифенилни съединения без и със антиоксидантен потенциал (т.е. без и със свободни фенолни ОН групи) проявява същата инхибираща способност както индивидуалните съединения с антиоксидантен потенциал. Заместените С2 хидроксилирани бифенили проявяват силна биологична активност, но не оказват влияние върху инхибиращата способност на техните аналози със свободни ОН групи. Смесите се препоръчват единствено, за да се комбинират двете активности- биологична и антиоксидантна (тр. 72).

Установено е, че еквимоларни двойни смеси на противотуморния препарат 5-флуороурацил с тимол, димер на тимола, карвакрол, димер на карвакрола, куркумин, и евгенол не проявяват синергизъм, но антиоксидантните композиции запазват инхибиращата си способност, като за куркумина тя е максимално висока. Получените резултати могат да се използват за изясняване механизма на действие на смеси от два природни продукта при нови фитохимични терапии. Двойни смеси с алфа-токоферол. Направен е сравнителен анализ на 20 антиоксидантни композиции от двойни еквимоларни смеси, съдържащи алфа-токоферол и моно-, би- или полифеноли. Доказано е, че синергизмът между компонентите се дължи на регенерирането на алфа-токоферола, който е по-силният антиоксидант в смесите. Различните ефекти на антиоксидантните композиции са сравнени и дискутирани като са предложени нови реакционни схеми, описващи наблюдаваните ефекти (тр. 64). Изяснени са основните фактори, отговорни за наличието на синергизъм между индивидуалните компоненти (тр. 31, 64, 72).

Предложен е комплексен механизъм за регенериране на токоферола по време на липидното автоокисление като индивидуален антиоксидант и в двойни смеси, както и на страничните реакции, в които участват феноксилните радикали, водещи до понижаване на активността на токоферола (тр. 44, 72).

Установено е, че еквимоларните двойни смеси на кверцетина и рутина с алфа-токоферол при ниската концентрация 0.1 mM водят до ясно изразен синергизъм между тях (46% за кверцетина и 89% за рутина). На база получените резултати не се препоръчва механичното смесване на два флавоноида, а да се използват в смеси с алфа-токоферол, за постигане на по-силен инхибиращ ефект (тр. 58, 69).

Получени са нови резултати за инхибиращият ефект на нови антиоксидантни композиции на канелени киселини (кафеена, синапова, ферулова) и стандартни антиоксиданти с алфа-токоферол върху окислителната стабилност на липидните субстрати. Доказано е, че двойни смеси от фенолни антиоксиданти, съдържащи токоферол, в повечето случаи показват синергизъм. Получените резултати са

много важни за практиката при подбор на съединения, които добавени като двойни смеси до доведат до многократно по-висока окислителна стабилност на липидните проби (тр. 64, 69, 72).

Създадени са еквимоларни двойни смеси на алфа-токоферол с 6 хидрокси производни на 4-метилкумарина (бензо-алфа-пиранови) и 4 сродни съединения (бензо-гама-пиранови) и е изследвана способността им да инхибират липидното автоокисление. Доказана е 2- до 8-кратно по-висока антиоксидантната активност на двойните смеси на кумарините и 9-кратно по-висока за сродните съединения в сравнение с тази на индивидуалните съединения (тр. 31). Очевидно е, че добавянето на токоферол във всички случаи обезпечава по-висока окислителна стабилност на липидния субстрат. Два от кумарините показват синергичен ефект, а други два адитивен. Тези двойни смеси са използвани за създаване на еквимоларни тройни смеси с добавяне на аскорбинова киселина. Представени са реакционни схеми, описващи наблюдаваните ефекти (тр. 31).

За първи път са изследвани еквимоларни двойни смеси с токоферола на двата бис-кумарина, показали най-висока антиоксидантна активност, за наличие на възможен синергизъм. Наблюдавана е по-висока окислителна стабилност на липидния субстрат в присъствие и на двете двойни смеси в сравнение с тези за индивидуалните компоненти, но не е установено наличието на синергизъм между компонентите. Сравнителният кинетичен анализ показва, че окислителната стабилност на липидния субстрат е значително по-висока в присъствие на двойните смеси от кафеена киселина и токоферол, в сравнение с тази за 4-хидрокси-бис-кумарина с катехолова структура. Двойната смес на синаповата киселина с токоферола също показва по-висока окислителна стабилност на липидния субстрат от тази на съответния 4-хидрокси-бис-кумарин с токоферола (тр. 50).

Доказано е, че бензоксантеновите лигнани са с по-висока антиоксидантна активност от неוליгнаните, и че еквимоларните двойни смеси на неוליгнаните с DL-алфа-токоферол показват синергизъм, докато тези на бензоксантеновите лигнани – антагонизъм (тр. 50). За постигане на висок инхибиращ ефект се препоръчва прилагането на неוליгнаните в смеси с токоферола, докато бензоксантеновите лигнани е по-добре да се използват самостоятелно, а не в смеси с токоферол. Създадени са нови антиоксидантни композиции от два и три компонента на хидроксилирани бифенилни съединения и съответните мономери с алфа-токоферол и аскорбинова киселина/ палмитат, които повишават значително окислителната стабилност на липидния субстрат и могат да се приложат като хранителни добавки (тр. 44, 64, 72). Предложени са нови комбинирани механизми на действие на еквимоларни двойни и тройни смеси с алфа-токоферол и аскорбилпалмитат, обясняващи наблюдаваните ефекти на синергизъм, адитивизъм и антагонизъм (тр. 31, 44).

Предложен е комбиниран механизъм на действие в тройната смес за дехидроцингерона и неговия димер с токоферол и аскорбилпалмитат. За първи път е доказано, че еквимоларната двойна смес на дехидроцингерона, както с токоферола, така и с аскорбилпалмитата, проявява значим синергизъм. Като се отчете и синергизма между токоферола и аскорбиновата киселина, се изяснява защо общият краен ефект на тройната смес е синергизъм. Получените нови резултати показват, че е по-изгодно дехидроцингеронът да се използва в смеси, отколкото като индивидуален антиоксидант, което е много важно за практиката. Цингерона и неговия димер показват слаб синергизъм при 10-кратно по-висока концентрация на компонентите, докато при ниската сместа не показва по-висока ефективност. От димерите единствено димерът на феруловата киселина показва синергизъм с алфа-токоферола (тр. 44).

Четири нови еквимоларни тройни смеси, съдържащи хидрокси-кумарини са създадени като използвани двойните смеси, показали синергизъм и адитивизъм, и към тях е добавена аскорбинова киселина. Всички тройни смеси проявяват силен синергизъм като резултат от възможното регенериране на токоферола (като най-силен антиоксидант) от другите два компонента – кумарина (АОН) и аскорбиновата киселина. Представени са нови реакционни схеми за обяснение на възможните реакции, които протичат и дават информация за механизма (тр. 31). Въз основа на получените резултати за антиоксидантните композиции е направен научно обоснован подбор на нови антиоксидантни композиции от 2 и 3 компонента за ефективно стабилизиране на липиди.

Бъдещи перспективи на изследванията по мое мнение ще включват – разработването на нови методи за оценка на окислителната стабилност, търсене на нови природни източници с антиоксидантен потенциал и задълбочаване и разширяване на работата по дизайн на нови синтетични аналози на природни био-антиоксиданти.

## **ПРЕПОРЪКИ**

Материалът по конкурса след съответно редактиране да се представи за публикуване във вид на монография. Смятам, че той ще намери широка подкрепа в научните и технологични среди при търсенето на нови анти- и био-антиоксиданти и тяхното приложение в практиката.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

На основа на представените данни и задълбочения им анализ мога да заявя, че доц. В. Кънчева е разработила важно направление в кинетиката, механизма и реакционната способност на органични съединения. Значителни са нейните постижения в областта на липидното окисление и окислителните процеси в течна фаза, скрининга на антиоксиданти и био-антиоксиданти и техни двойни и тройни смеси с

доказано синергично, адитивно и антагонистичо действие. Това изследване е пример за получаване на актуални с висока научна и приложна стойност резултати в тясно сътрудничество с колеги от България, Русия, Полша, Италия, Индия и др. Получените резултати са разположени на границата между химията, биологията и медицината. Предлагам на уважаемото НЖ да избере за професор - доцент д-р Весела Денева Кънчева (Кортенска) по професионално направление 4.2 Химически науки, научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества“ за нуждите на Лаборатория по „Химия на липидите”, обявен в Държавен Вестник бр. 94 от 24.11.2017 г.

София, 09.03.2018

Подпис:

/Проф.дхн С. Раковски/