



ФАРМАЦЕВТИЧЕН ФАКУЛТЕТ
на МЕДИЦИНСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ - СОФИЯ

ул. Дунав 2, 1000 София

РЕЦЕНЗИЯ

върху научните трудове
по конкурса за **старши научен сътрудник I степен**
по специалността "Биоорганична химия и химия на природните и
физиологично активните вещества" (шифър 01.05.10)
за нуждите на секция "Микробен биосинтез и биотехнологии"
на Института по микробиология „Ст. Ангелов“ при БАН,
обявен в Държавен вестник, бр. 10 от 30.01.2007 г.

Единствен кандидат в конкурса:

старши научен сътрудник II степен д-р **Венета Боянова Иванова**,
доктор на химическите науки

Рецензент: проф. д-р **Иво Хр. Иванов**, д.х.н.,

Катедра по органична химия, Фармацевтичен факултет на Медицинския
университет - София, ул. Дунав 2, 1000 София; **сл. тел. 9236-533**;
телефакс: 02-987-9874; дом. тел. 02-988-3858; подвижен тел. 0898-
232829; ел. поща: ivanov43@gmail.com

1. Биографични сведения

Венета Боянова Иванова е родена през 1944 г. в с. Калище, Софийско. Завършва висше образование през 1970 г. във ВХТИ (сега ХТМУ) – София, специалност "технология на органичния синтез и каучука", специализация „технология на фармацевтичните препарати и багрилата“. Като инженер-химик тя работи пет години във фармацевтичната индустрия, ХФЗ-София, а след това и две години в НИХФИ-София, като аналитик. Участва във внедряването на синтетични лекарствени препарати в производството. През 1978 е назначена за научен сътрудник в Института по микробиология на БАН, където през 1990 се хаби-

лтира за ст. науч. сътр. II ст. Докторска (кандидатска) дисертация защитава през 1985 като аспирант на самостоятелна подготовка, а през 2004 получава и научната степен „доктор на химическите науки“ в областта на изолирането и идентифицирането на антибиотици. От 1981 г. насам е специализирала многократно за различни периоди в Йена и Гьотинген (Германия), Барселона (Испания), Базел (Швейцария) и Чикаго (Япония). Д-р В. Иванова има преподавателска дейност като хоноруван преподавател в Колежа към ХТМУ, чела е лекции в Испания и Япония и е научен консултант на две докторски дисертации. По нейна преценка владее четири чужди езика (немски, испански, английски и руски). Била е ръководител и изпълнител в 15 научни проекта с национално и чуждестранно финансиране (напр. DFG – Германия).

2. Анализ на представените трудове

Според списъка на кандидатката като научни трудове са представени 2 автореферата на дисертации, 62 публикации в периодични научни списания, 17 публикации в пълен текст в сборници от научни прояви, 1 доклад, изпратен за печат, 1 обзорна статия, 4 патента в Германия и 8 авторски свидетелства за изобретения в България, 3 акта за внедряване, 5 резюмета на научни съобщения, недублиращи други трудове, 1 рационализация и 1 участие във внедряване на цинаризин – всичко 105 труда. Значително улеснение за рецензентите е приложеното от кандидатката стриктно групиране на трудовете в таблици според принадлежността им към двете дисертации и първата хабилитация (за ст. науч. сътр. II ст.), т. нар. „Справка – анализ на публикациите“.

Тъй като вече са получили съответната оценка по-рано, тук отпадат от рецензиране по същество трудовете номер 1 и 2 (автореферати на дисертациите), публикациите с номера 50÷53, авторското свидетелство No.84 и аналогичния по съдържание германски патент No.93, включени в кандидатската дисертация, както и трудовете с номера 3÷5, 7, 9÷14, 16, 18÷23, 29÷31, 33, 34, 36÷39, 43, 54÷56, 58, 59, 61, 71, 72 и 79, включени в дисертацията за доктор на науките. От същата дисертация са и авторските свидетелства номера 87, 90 и 91, и двата германски патента (No. 95 и 96) за добиване на антибиотиантибиотични комплекси и техни соли, те също отпадат от рецензиране по същество.

Докладът на конгрес във Варна (труд No. 28) върху нов макролиден антибиотик от *Streptomyces hygroscopicus* е даден само като кратко резюме в сборник от конгреса. Пълният текст на публикацията в *Z. Naturforsch. B* не може да бъде разглеждан, тъй като е бил приет за печат (19 май 2007) след изтичане срока на конкурса (края на март 2007).

2. Дисертация за доктор (кандидат на науките; 1985 г.)

Разработена е в Института по микробиология на БАН и в Института по микробиология и експериментална терапия в гр. Йена (Германия). Този труд е посветен на химично изследване на антибиотиците, продукти на биосинтеза на щама 111-81 от *Streptomyces hygrosopicus*. Изолирани и пречистени са антибиотични комплекси, някои от антибиотичните компоненти са били изолирани в чист вид чрез препаративна колонна хроматография. С помощта на спектрални методи е разгадана частичната структура на основния неполиенов макролиден антибиотик на комплекса 165. Идентифициран е познатият антибиотик **елайофилин (азаломицин В)**. Установено е, че четирите компонента на комплекс ИМ 111 са нови представители от групата на полиетерните антибиотици. За пръв път се установява едновременно продуциране на полиенови и неполиенови макролидни антибиотици, **азаломицин В** и полиетерни антибиотици в културалната течност на изследвания щам *Streptomyces hygrosopicus*.

3. Дисертация за доктор на науките (2004 г.)

Тази дисертация обхваща около половината от научната продукция на кандидатката, ето защо заслужава повече внимание. Основната тежест на дисертацията е задълбоченият химичен анализ на продуцирания антибиотичен комплекс от неизследвани дотогава шест щама на вида *Streptomyces hygrosopicus*. Разработени са съответните лабораторни технологии да изолиране и пречистване на неполиенови макролидни антибиотици. Чрез подходящо комбиниране на химични и спектрални методи са установени структурите на сложно построените нови неполиенови макролидни антибиотици **малонилнифимицин, демалонилнифимицин, N-метилнифимицин, дихидронифимицин, малонилдихидронифимицин** и антибиотик с шифър *AK-165-4*, изолирани от културална течност на четири щама на *Streptomyces hygrosopicus*. Освен тях са доказани структурите още на **десертомицин Е** от културална течност на *Streptomyces spectabilis*; от гъбата *Chrysosporium queeslandicum* са изолирани и установени структурите на **хризокуин** и **хризоландол**, хидроксинафтохинонови антибиотици, и **куинсландон**, един микотоксин.

В тази дисертация са отразени още и резултатите от изследвания на биопродукти (алкалоиди, метаболити) от други организми, като например *Streptomyces sp.1010* (Антарктида), *Microbispora aerata* IMBAS-11A (Антарктида), лишейте *Neuropogon* и *Xanthoria parietina*, водораслите *Ulva lactuca* и др. Изолирани и идентифицирани са редица биологичноактивни вещества от различни класове, между които осем неописани по-рано в литературата. За доказване на хи-

мичния им строеж широко са застъпени съвременните техники на мас-спектрометрията и особено на ^1H - и ^{13}C -ЯМР.

Дисертацията за доктор на науките на д-р Иванова представлява едно много обширно и разнообразно по характер научно изследване, отразено в около 40 научни труда и породило над 40 цитирания от чуждестранни автори.

4. Методи

В трудовете си авторката демонстрира владеене и целесъобразно прилагане на най-съвременни методи за изследване в препаративната химия на природни вещества, което ѝ позволява да реши успешно поставените научни и експериментални задачи. Широко са застъпени хроматографските методи за анализ (вкл. ВЕТХ), за доказване, изолиране и пречистване на антибиотиците или за контрол на биотехнологичните процеси. За установяване на структурата на изолираните съединения са използвани и компетентно интерпретирани данни от инфрачервената спектроскопия, както и спектроскопията на ЯМР с нейните многобройни техники и корелационни методи (^1H -ЯМР, ^{13}C -ЯМР, DEPT 135, DEPT 90, NOE, JMOD, ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C COSY, INEPT, HMQC, HMBC и NOESY). Освен класическата мас-спектрометрия с електронен удар са използвани и по-новите йонизационни техники, например електроспрей (ESI), HRFAB-MS, HREI-MS и др. Трябва да подчертая, че молекулите на изследваните макролидни неполиенови антибиотици са често с молекулна маса над 1000 Da, обикновено установена с помощта на FAB-MS, и тълкуването на изключително сложните инфрачервени и ядреномагнитни спектри е много трудна задача. В много от случаите броят на протоните надхвърля 100, а на въглеродните ядра – 50.

Трудната препаративна експериментална работа е извършена прецизно, често при вариране на опитните условия с цел оптимизиране на добивите при лабораторните технологии или за подобряване качеството на продуктите.

5. Научни приноси

Освен застъпените в дисертациите трудове и тези за хабилитиране като ст. науч. сътр. II ст., за рецензиране по същество остават 29 труда в специализирани издания (No. 6, 8, 15, 17, 24-27, 32, 45-47, 62-70, 81-83, 101-105). От тях 10 са в Доклади на БАН, 8 са участия на научни прояви в България. В отделен списък кандидатката е посочила пет научни съобщения от международни и национални научни прояви (номера 101-105), които не дублират други трудове.

Г-жа Иванова е приложила към документите си една изключително подробна и обширна справка (20 стр.) за всичките си научни приноси. В рамките на настоящата рецензия не е възможна подобна изчерпателност. По-скоро ще се опитам да обобща накратко направленията на изследване и по-съществените постижения по тях, като разбира се има преплитане на резултати от дисертациите и по-нататъшно развитие на тематиката в трудовете след това.

I. АНТИБИОТИЦИ ОТ МИКРООРГАНИЗМИ. Към това основно направление, което води началото си още от кандидатската дисертация, следва да се отнесе изолирането, идентифицирането и доказването на химичния строеж на антибиотици, произведени от щамове, принадлежащи към вид към видовете *Streptomyces hygroscopicus*, *Streptomyces spectabilis*, *Streptomyces levoris*, *Streptomyces flavovirens*, *Streptomyces rimosus* и *Streptomyces sp. 1010*. С помощта на химични и спектрални методи са установени еднозначно структурите на шест нови неполиенови макролидни антибиотици, производни на **нифимицина: малонилнифимицин, демалонилнифимицин, АК-165-4, N'-метилнифимицин, дихидронифимицин, малонилдихидронифимицин**. Тези антибиотици потискат растежа на патогенни гъби, дрожди, Грам-положителни бактерии и микобактерии. От културалния филтрат на *Streptomyces hygroscopicus 15* е отделена смес от два антибиотични компонента, означена като **NA-15**. Разделени са чрез препаративна ВЕТХ. Химичните и спектралните анализи са позволили двата антибиотика да се отнесат към гликозидните и са идентифицирани като **хигромицин А** и **епихигромицин А**, вторият от които е изолиран за първи път от *Streptomyces hygroscopicus*.

От *Streptomyces spectabilis*, благодарение на разработена от авторите технология, е изолирана и хроматографски разделена смес от неполиенови макролидни антибиотици, като са доказани точният химичен строеж на **десертомицин-А, десертомицин-D** и **десертомицин-Е**, със значителна активност срещу Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии. От тях се е оказало, че **десертомицин-Е** е нов неполиенов макролиден антибиотик.

Щамът *Streptomyces flavovirens* е изолиран от почви на Антарктида и изследван за първи път. От него се добива актиномицинов антибиотичен комплекс, активен срещу Грам-положителни бактерии и тумори. Основните компоненти са идентифицирани като **актиномицин X₂, актиномицин C₁ и актиномицин C₂**, които принадлежат към пептидните антибиотици. Щамът *Streptomyces sp. 1010*, също с произход Антарктида, е послужил за изследване продукцията на естери на алифатни и ароматни киселини, между които е намерен един нов метаболит **2-амино-9,13-диметилхептадеканова**

киселина, доказана е структурата му и активността му спрямо Грам-положителни бактерии.

Изследвани са също антибиотици, произведени от филаментозните гъби *Chryso-sporium queenslandicum*, *Tritirachium sp.* и *Fistulina hepatica*. Авторите са намерили подходящ подход за изолиране и пречистване на нафтохинонови и β -хидроксинафтохинонови антибиотици, както и микотоксина **куинсландон** от ферментационната течност на *Chryso-sporium queenslandicum*, изолиран от египетски почви. На два нови β -хидроксинафтохинонови антибиотици, **хризокуин** и **хризоландол**, е доказан химичният строеж и относителната конфигурация. Филаментозната гъба *Tritirachium sp.*, изолирана от антарктическите лишей *Neurospora sp.*, е послужила като източник за добиване на два 16-членни макролидни антибиотика — **макросфелид А** и **макросфелид J**, чиито структури са били успешно доказани, както и тяхната активност спрямо редица широко разпространени бактерии като *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* и др.

II. БИОЛОГИЧНОАКТИВНИ ВЕЩЕСТВА ОТ МИКРООРГАНИЗМИ И ОТ ДРУГИ ОРГАНИЗМИ. За първи път са изолирани и таксономично определени два актиномицетни щамове, *Microbispora aerata* и *Streptomyces flavus*, от почви и екскременти на пингвини, събрани на остров Ливингстън, Антарктида. Изолирани и доказани са **дикетопиперазини**, **тираминови** и **индолови** алкалоиди, **аденозин**, **дезоксиаденозин**, **дезокситимидин** и два циклични **дипептида**.

Намерено е, че актиномицетния щам (термофил) *Microbispora aerata*, от същия антарктически произход, продуцира между другото тираминови и индолови алкалоиди. На два от тях, новите алкалоиди **биспорин В** и **биспорин С**, еднозначно са определени структурите. От културалния филтрат на същия щам са изведени точните структури на два сярна-съдържащи индолови алкалоида, от които единият, наречен **микробиаератин**, е неописан преди това. Той проявява цитотоксичен ефект *in vitro* спрямо ракови клетки на тест-моделите.

От лишей *Neurospora sp.* от Антарктида по оригинална технология са изолирани 4 съединения от групата на депсидоните, два от които идентифицирани като проточетрарикова киелина и уснинова киселина. Притежават антибактериен и цитотоксичен ефект. Доказани са структурите на три нови депсидона — **неуропогенини А**, **В** и **С** (дисертация за д.х.н.). От други два лишей, *Xanthoria parietina* и *Parmella borrieri*, събрани този път от Канарските острови, са намерени антрахинонови производни (*Xanthoria parietina*) и някои известни депсиди (*Parmella borrieri*). Идентифицирани са **фисцион**, **фалацинол** и един нов, неописан дотогава, **2-метокси-4,5,7-трихидроксиантрахи-**

нон с антибактериен и цитотоксичен ефект, а от депсидите — **леканорова киселина, орцинол** и **метилов естер на орселиновата киселина**.

Интересни резултати е постигнала д-р В. Иванова при изследванията на зелени морски водорасли. В *Ulva lactuca* (от Черно море) е намерен хетерополизахарид, който е бил подложен на хидролиза и са установени монозахарите, които го съставляват — преди всичко **D-алдохексози** и **L-рамноза**. Хетерополизахаридът е показал значима антивирусна активност срещу грипни вируси. Аналогичен хетерополизахарид е бил изолиран и от мицел на щам *Streptomyces sp.* от Антарктида. От лечебното растение *Agrimonia eupatoria* с помощта на ТСХ и спектрални методи е изследван флавоноидния състав (трудове 88, 89), но едва ли само идентифицираните фенолни компоненти могат да обяснят противотуморната и антивирусната активност на растението. На основата на лечебни растения е разработен билковият препарат „*Бронхо Пам*“ срещу респираторни инфекции (трудове 6, 44, 89).

Антарктическите мъхове *Sanionia georgico-uncinata* са послужили за изследване на метаболити, изолирани по оригинална технология. Те са означени като **санионин А** и **В**, установено е, че представляват геометрични изомери, вероятно **халконови производни**. Показали са активност срещу Грам-положителни патогенни организми.

Изследвани са ензими от микроорганизми, щам *Kluveromyces lactis*. Разработена е подходяща технология за добив на ензимни препарати, съдържащи β -галактозидаза, за обработка на млечни суровини. От щам *Thermoactinomyces sacchari*, изолиран от български почви, е изолирана топлинно устойчива Zn-зависима неутрална протеиназа. Изследвана е специфичната ѝ активност спрямо инсулин. Термостабилността на неутралната протеиназа се повишава в среда, богата на калциеви йони, резултат с важно практическо приложение (трудове 17, 69, 82).

Основните научни приноси в трудовете на д-р Венета Иванова могат да се определят главно като **нови факти за науката** и следователно представляват съществен **теоретичен принос** към химията на антибиотиците и биологичноактивните вещества; намерени са **нови вещества, суровини и материали с полезно приложение в науката и практиката**; и в относително по-малка степен са налице и **приноси с потвърдителен характер**.

Едва ли в рамките на рецензията могат да се опишат подробно всички заслуги на г-жа Иванова към химията на биологичноактивните съединения. Изброените дотук научни и методологични постижения очертават обаче ясно един богат и интензивен творчески път.

6. Внедрявания

Заслужават внимание и нейните научно-приложни разработки в рамките на работата ѝ в НИХФИ и ХФЗ-София, както и някои внедрявания още от периода 1980-1988 г. Участвала е в колектива, внедрил препарата *цинаризин* във Фармацевтичния завод в Дупница, и има актове за внедряване на две изобретения и една рационализация. Икономически ефект от 500 хил. лв. е удостоверен само за колектива, внедрил цинаризина.

7. Лично участие

Мисля, че запознаването с публикациите дава достатъчно основание да се приеме, че г-жа Иванова има главна заслуга в ръководството и провеждането на трудоемките и изискващи висока прецизност експерименти, за обобщаването на резултатите и оформянето им в публикации, разбира се без да омаловажавам ролята на нейните съавтори. Тя е представила 6 самостоятелни труда, в около 50 % от трудовете г-жа Иванова е първи автор, а като втори автор е посочила около 15 % от трудовете. Не мога да преценя степента на личното ѝ участие във фармако-биологичните изпитания на веществата. Разбира се цялата научна дейност на г-жа Иванова не би дала толкова обилни плодове, ако не се основаваше на интензивно научно сътрудничество с учени от задгранични университети и институти, най-вече в Германия, Япония и Испания, особено когато се отнася до използването на уникални и скъпи съвременни апарати.

7. Характер на публикациите и цитирания

Научните публикации са в добре известни международни специализирани издания с импакт-фактор като *Die Pharmazie*, *Spectrochimica Acta*, *Z. Naturforsch. (секции B и C)*, *J. Antibiot. (Japan)*, *Prep. Biochem. Biotechnol.*, *Microbiol. Res.* и други. Приемането на тези работи за печат в посочените авторитетни издания съответства на високата стойност на постигнатите научни резултати. От българските списания, освен *Доклади на БАН*, са застъпени *Acta Microbiol. Bulg.*, *Годишник на СУ* и др. Кандидатката е посочила в приложените материали подробна справка за импакт-факторите на трудовете си. Сумарният импакт-фактор възлиза на **16,9**. Без съмнение голяма част от публикациите са написани на високо научно-теоретично равнище, на добър английски, и обобщават експериментален материал, чиято доказателствена стойност не може да се оспори. Широко са използвани съвременни методи за изолиране, пречистване, изследване и доказване на строежа на получените съединения. Авторката е приложила списък на общо 102 цитирания, от които 94 от чуждестранни автори,

а броят на цитираните публикации е 24 от всичко 104. Най-често е цитиран труд No.11 (*Prep. Biochem.* 1994; 22 пъти) от дисертацията за доктор на науките, в който г-жа Иванова е първи автор. Този труд е посветен на изолирането на нов полизахарид с антивирусна активност от водораслите *Ulva lactuca*. След това с по 9 цитирания са труд No.19 (*Z. Naturforsch. C*, 2000), относно антигрипен ефект на екстракт от водорасли, и труд No.20 (*Z. Naturforsch. C*, 2001), който описва вторични метаболити от щам *Streptomyces*, изолиран в Антарктида. Кандидатката е приложила копия от източниците, цитирали нейни работи, което общо взето рядко се случва при подобни конкурси. Внушителният брой цитирания е още един признак, че г-жа Иванова работи в интересна и актуална научна област. Цитати 22 и 23 (в списъка) съдържат неразбираеми символи. Тук обаче ми се иска да отбележа, че има известно залитане при търсенето на по-голям брой цитирания, като в списъка на кандидатката фигурират различни бази данни [напр. цитати с номера 36 (база данни на ВИНТИ), 63, 82, 90-96, 98, 100 и др.] и енциклопедични справочници (напр. цитати No. 64, 74, 80, 101 и др.). В такива издания или УЕБ-сайтове съставителите са *длъжни* да включват всички нови данни. Според мен най-стойностни са цитиранията в периодични научни издания (списания) и книги.

Отделни технически и правописни грешки съм отбелязал с молив в някои от материалите на кандидатката (напр. в списъка на научните трудове).

8. Заключение

Представената ми за рецензиране научна продукция на единствения кандидат в конкурса е внушителна както по обем, така и по богатство на експерименталния материал и по качество на извършената теоретична работа. Изведени са резултати и обобщения с висока научна стойност, на равнището на най-добрите постижения в химията на антибиотиците в световен мащаб. Убеден съм, че научната ѝ продукция напълно съответства по качествени, количествени и наукометрични показатели на изискванията на ЗНСНЗ за исканото научно звание. Бих казал, че това ѝ участие в конкурс за ст.н.сътр. I ст. е доста позакъсняло. Препоръчвам на почитаемите членове на Специализирания научен съвет по фармация при ВАК да изберат доктора на химическите науки, г-жа **Венета Боянова Иванова**, за **старши научен сътрудник I степен**.

София, 20.07.2007 г.

Рецензент:

(И. Иванов)