

С Т А Н О В И Щ Е

от доц. д-р Живко Велков

за дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен “доктор” в професионално направление 4.2. Химически науки на тема:

КВАНТОВО-ХИМИЧНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ НА МОНОХИДРОКСИФЛАВONI И ТЕХНИ КОМПЛЕКСИ

докторант Мария Христова Вакарелска-Поповска

Редовен докторант в кат. “Химия” на Природо-математически факултет на ЮЗУ „Неофит Рилски“, Благоевград

I. Биографична информация за докторанта

Мария Христова Вакарелска-Поповска завърши бакалавърската програма на катедрата ни през 2009 год. и магистърската програма „Биологично-активни вещества и лекарствени средства“ през 2011 год. Дипломира се и като магистър-биотехнолог в ХТМУ-София през 2013 год.

Докторантката беше зачислена като редовен докторант по „Органична химия“ в катедрата със заповед на ректора №229/19.02.2013г. След изтичане на тригодишния срок на обучение е отчислена с право на защита, какъвто е статутът ѝ в настоящия момент.

Мария Вакарелска-Поповска е омъжена и има две деца. Основните причини за продължителната работа върху дисертацията ѝ са семейните и професионалните ѝ ангажименти.

II. Оценка на извършената научно-изследователска дейност

Дисертационният труд, представен от Мария, е разработен под мое ръководство и е посветен на актуална химична тематика – изследване на монохидроксилни производни на флавоните, клас природни вещества, които намират изключително широко приложение в медицината.

Темата на дисертацията на Мария Вакарелска-Поповска беше прецизирана в хода на работата. Първоначалните ни намерения бяха да се започнат структурни/квантово-химични изследвания на флавоноиди с природен произход. След внимателен литературен обзор обаче стигнахме до извода, че не бива да се започва с природни флавоноиди, които имат повече на брой функционални групи, чието взаимно влияние е трудно да бъде оценено без да се познава ролята на базовата 2-фенил-бензо-пиранонова структура върху реактивоспособността им.

Ето защо се насочихме към монохидроксилни производни на флавоните – съединения с π -електронна система, която обхваща цялата молекула и с една хидроксилна група. Решихме, че това ще бъде първият етап от изследването, а на следващия етап ще се заемем с по-сложните природни молекули.

На първия етап от изследването трябваше да се намери подходящ квантово-химичен метод за работа и подходящи дескриптори, които да са пресметнати достатъчно надеждно и да описват добре реактивоспособността на изследваните съединения.

За пресмятане на дескриптори, които да оценяват реактивоспособност, се налага да се смятат и преходни структури – незаредени и заредени радикали и синглетни йони. Това от своя страна налага като безалтернативен DFT-метода в неограничения му вариант, отчитащ електронната корелация.

Преди десетина години водещи в изследването на радикал-улавяща способност бяха групата от Словения – Vladimír Lukeš, Erik Klein, Michal Pcin, групата на Grzegorz Litwinienko от Полша, на Mario C. Foti от Италия, Saski A.B.E. van Acker от Нидерландия и някои др. В своите работи те използват преимуществено B3LYP за смятане на термодинамични функции на съединения, съдържащи фенолен тип О-Н група, в това число флавоноиди. Отчитане на поляризиращото действие на водата се прави чрез имплицитния метод на Томази. Освен това първоначално се смяташе, че даже при изучаване на разкъсването на О-Н връзка не е необходимо да се използват дифузни функции, но горните автори наложиха обратното схващане, че triple- ζ орбиталният базис с добавени дифузни функции за леки и тежки атоми е по-подходящ.

В първата ни статия пресметнахме енталпията на хомолитична дисоциация на О-Н връзката (BDE) като дескриптор за радикал-улавяща активност на монохидроксифлавонолите. Изчисленията бяха проведени във вакуум и без използването на дифузни функции. Тези резултати се отнасят само за реактивоспособност в неполярни среди. Оказа се, че във вакуум участието във вътрешномолекулна водородна връзка е първата съществена причина за ниска реактивоспособност на хидроксилните групи на флавонолите. Най-силната такава връзка може да се реализира, ако хидроксилната група е на 5-та позиция в пръстен А на флавонолите.

Във втората статия са коментирани резултатите от пресмятане на BDE на О-Н във вакуум и при отчитане на влиянието на водата като разтворител. Оказа се, че водата не променя значително реактивоспособността и това се дължи на незначителните промени, които настъпват в монохидроксифлавонолите и получените от тях радикали, когато се разтворят във вода.

Тук е направен изводът, че една основна причина за промяна на BDE на О-Н връзката е преносът на електронна плътност от хидроксилната към карбонилната група и в изомерите, в които има ефективен пренос – BDE е по-голяма. Друг такъв фактор е наличието на вътрешномолекулна водородна връзка, но този фактор намалява във вода.

В третата статия са сравнени Mulliken-овите заряди при атомите във всички изомерни монохидроксифлавоноли. Целта е да се оцени по-добре разпределението на електронната плътност в тях и как позицията на хидроксилната група влияе върху разпределението на електронната плътност и реактивоспособността на тези съединения.

Опитът с Mulliken-овите частични заряди не беше особено успешен и това ни върна окончателно към пресмятането на енталпиите преди и след разкъсване на О-Н връзката, както и промяната ѝ на всеки етап от това разкъсване, като термодинамичен дескриптор за радикал-улавяне.

Четвъртата статия е най-сериозното теоретично изследване на радикал-улавящата активност на монохидроксифлавоновете, публикувано до сега.

Тук изчисленията, освен че са проведени с висок орбитален базис, са проведени и в присъствие на вода, което трябваше да се направи, предвид това, че по-голямата част от флавононите производни изпълняват своите функции в организма във водна среда. Оптимизацията на геометрията е проведена със стандартния 6-311++G(d,p) орбитален базис. Целта на работата е да се оцени ефектът от смяната на позицията на хидроксилната група върху радикал-улавящата активност на изомерите. Резултатите показваха, че най-вероятният механизъм на реакцията на дисоциация на O-H връзката в монохидроксифлавоновете е SPLET-механизмът (последователен пренос на протон и след това на електрон от радикал-уловителите към активния радикал, който и да е той).

В петата статия са изследвани сродни на флавононите съединения – синтетични 3-фенилкумарини. Идеята беше да се сравнят получените вече резултати за радикал-улавяща активност на монохидроксифлавоновете с тези на близки по структура съединения. Между разгледани кумаринови производни има с две, три и четири хидроксилни групи. Тук за първи път се коментират взаимните влияния на хидроксилните групи, като свойствата на дихидроксилните се извеждат от монохидроксилните производни, трихидроксилните от дихидроксилните, а тетра-хидроксилните – от трихидроксилните. Този подход очевидно е добър и трябва бъде използван и в бъдеще.

Оказа се, че намерената в литературата активност спрямо DPPH корелира прекрасно с пресметнатите стойности за енталпията на трансфер на електрони (ETE) – определящ дескриптор за SPLET-механизма, който се реализира в тази реакция според нашите резултати. С други думи беше намерено експериментално потвърждение на нашата хипотеза.

Върху *in vitro* изследванията за радикал-улавяща активност винаги стои сянката на съмнение, че не могат да бъдат надежден модел за поведението на същите вещества, в човешкия или животински организми. Много автори даже твърдят, че *in vitro* радикал-улавящата активност не е показателна за антиоксидантната активност на същите съединения в *in vivo* или клинични експерименти. В случая с флавононите даже има данни за обратното поведение – в присъствието на метални йони тези съединения се държат като генератори на радикали. Това ни накара да проведем собствени експериментални изследвания за координационната способност на монохидроксифлавоновете и активността на комплексите спрямо DPPH-радикала (*шестата статия*). Оказа се, че тези комплекси показват по-скоро радикал-генериращи свойства, отколкото радикал-улавящи. Разбира се, това в никакъв случай не може да се отнесе към всички хидроксилни производни на флавононите, защото монохидроксилните производни обикновено имат слаба радикал-улавяща активност, когато се тестват без метален йон.

III. Заключение

Първите пет коментирани статии показват придобитата квалификацията на докторантката в теоретичен план – тя участва в провеждането и интерпретацията на резултатите от квантово-химични изследвания, които имат отношение към

термодинамичната и кинетична оценка за реактивоспособност на съединенията, както и към тяхна антиоксидантна/радикал-улавяща активност.

Последната шеста статия, от друга страна, показва експерименталните умения на докторантката – тя участва активно в синтеза и интерпретирането на спектроскопски данни за структурата на получените комплекси и провеждане на изследването за активност спрямо DPPH-радикала.

Познавайки добре участието на докторантката Мария Вакарелска-Поповска във всички проведени изследвания и квалификацията, която придоби по време на изработването и написването на дисертацията, като член на журито ще гласувам да ѝ бъде присъдена образователната и научна степен „доктор“.

09.01.2022 г.

Благоевград

Подпис:

(доц. д-р Ж. Велков)