

РЕЦЕНЗИЯ

от чл.-кор. проф. д.н. Петър Димитров Петров,
Институт по полимери при Българска академия на науките - член на научно жури

във връзка с процедура за защита на дисертация за присъждане на образователната и научна степен „доктор“ в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление: 4.2 Химически науки, научна специалност: Полимери и полимерни материали

Автор на дисертационния труд: ас. Ина Бориславова Анастасова

Тема: Електроовлакнени хибридни материали от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид) и производни на хитозана с насочено моделиран дизайн за потенциални приложения в биомедицината и за фотокаталитично пречистване на води

Научни ръководители: проф. д-р Оля Стоилова и проф. д-р Милена Игнатова

Настоящата рецензия е изготвена на основание на Заповед на Директора на Института по полимери - БАН № РД-09-182 от 02.12.2025 г., на решение на научното жури от 15.12.2025 г. и в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за неговото прилагане (ППЗРАСРБ), Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в Българска академия на науките и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в Института по полимери при Българската академия на науките.

Биографични данни за кандидата

Ина Бориславова Анастасова е родена през 1992 г. в гр. София. Тя е възпитаник на Факултета по химия и фармация, Софийски университет „Св. Климент Охридски“, където последователно придобива ОКС „бакалавър“ (специалност: Екохимия; професионална квалификация - химик) през 2019 г. и ОКС „магистър“ (специалност: Инженерна химия и съвременни материали; професионална квалификация - съвременни спектрални и хроматографски методи за анализ) през 2021 г. След приеман изпит е зачислена като редовен докторант в ИП-БАН през 2021 г., а през 2024 г. е назначена на академичната длъжност „асистент“ в същия институт. В периода 2021 - 2024 г. е била отличена на няколко научни форуми, сред които награда за устен доклад на 4-ти Интердисциплинарен докторантски форум с международно участие, проведен в гр. Сандански през 2023 година. Ас. Анастасова е носител и на наградата на Съюза на химиците в България “Професор Иван Шопов” за изявен млад учен в областта на полимерите за 2024 г.

Оценка за покриване на минималните изисквания

Определените минимални изисквания в ППЗРАСРБ и правилниците на БАН и ИП-БАН към научната дейност на кандидатите за придобиване на научна и образователна степен „доктор“ включват две групи показатели: *Показател А* - представен

дисертационен труд (50 т.) и *Показател Г* - научни публикации (30 т.). Ас. Анастасова, освен автор на рецензирания дисертационен труд, е съавтор на 2 научни статии в списанието *Polymers*, което попада в най-високата категория (Q1, 25 т.) научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus). Така сборът от точки на кандидата по двата показателя е 100 (50 + 50), при изискуем минимум от 80, с което формално са покрити законоустановените минимални изисквания за ОНС “доктор“.

Структура и съдържание на дисертационния труд

Дисертационният труд е структуриран съобразно общоприетите правила в областта на химическите науки и съдържа разделите увод, литературен обзор, цел и задачи, резултати и обсъждане (две отделни глави), опитна част, изводи, научни приноси и бъдещи насоки, списък на публикациите и научните съобщения, отразяващи резултатите от дисертационната работа и литературни източници. Дисертацията е написана на български език в обем от 123 страници, от които делът на: литературния обзор е 41 стр.; опитната част – 10 стр.; обсъждане на резултатите – 36 стр. и т.н. Систематизирането и визуализирането на резултатите е направено с помощта на 35 фигури и 1 схема. Цитирани са общо 323 литературни източници, подредени по азбучен ред. Добро впечатление прави широкия времеви обхват на споменатите източници – от средата на 20-ти век досега, като преобладават източници от последните 15 години. В литературния обзор е направен преглед и анализ на текущото състояние на научните разработки в някои области на полимерната наука, тематично свързани с дисертацията. Фокусът попада върху хитозана и негови производни и хомо- и съполимерите на млечната киселина, както и техни хибридни влакнести материали, получени чрез методите електроовлажняване и електроразпръскване. Разгледани са и различни потенциални приложения в медицината и опазването на околната среда. Накрая на литературния обзор, са направени изводи относно различни възможности за допълване и разширяване на съществуващите знания в областта на влакнестите хибридни материали от споменатите по-горе полимери и методи. Целта на дисертационния труд е формулирана точно и ясно. За нейното постигане са определени 4 основни задачи. Най-съществената част на дисертацията е разделът Резултати и обсъждане, който е разделен на две глави. Първата глава е посветена на получаването и охарактеризирането на влакнести материали от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид) и Шифова база на хитозана (синтезирана след реакция на хитозан с 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид). На следващ етап са получени комплекси на влакнестите материали с Cu^{2+} и Fe^{3+} йони и е изследвана антибактериалната и антитуморната им активност. Втората глава представя резултатите от изследване върху хибридни влакнести материали, съдържащи поли(L-лактид-съ-D,L-лактид), кватернизиран хитозанов олигозахарид и наночастици от ZnO и Fe_3O_4 с различен дизайн, получени чрез комбиниране на електроовлажняване и електроразпръскване. Изследвана е тяхната антиоксидантна и фотокаталитична активност. В опитната част са представени данни за използваните материали, процедурите за синтез на хитозанови производни и различни методи за получаване и физико-химично и биологично охарактеризиране на получените системи. Накрая, дисертацията завършва с шест основни извода и два оригинални приноса.

Предварителната проверка със специализиран софтуер, направена от докторантката, показва много нисък дял на сходство на текста на дисертационния труд, което е доказателство, че той не е плагиатстван.

Анализ на резултатите и оценка на приносите

Темата на дисертационния труд е в актуална област, а представените резултати са оригинални и автентични. Те допринасят за обогатяване на съществуващите знания в областта на влакнестите материали от биоразградими и биосъвместими полимери, съдържащи (био)активни вещества или частици. Настоящите изследвания са продължение на дългогодишната работа на екипа от ЛБАП към ИП-БАН в тази област, като същевременно се характеризират с новост и отличителни елементи.

Глава I

Синтезирана е Шифовата база на хитозан (Ch-8Q) чрез реагиране на полимера (средна вискозиметрична молна маса 380 000 g/mol и степен на деацетилиране 80%) с 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид (8QCHO). Реакцията протича при меки условия, в оцетно-кисела водна среда, като към полимерен разтвор се прибавя 8QCHO, предварително разтворен в етанол. Продуктът е изолиран, пречистен и охарактеризиран. С помощта на протонен NMR анализ е изчислено, че степента на заместване е 73%. Не е дискутирано доколко получената стойност съответства на предварително зададената степен на заместване и каква е молната маса на модифицирания хитозан (по-висока или по-ниска от изходния хитозан). На следващ етап, чрез метода електроовлакняване, са получени нови влакнести материали от Ch-8Q и поли(L-лактид-съ-D,L-лактид) (PLDLLA), като за целта предварително са приготвени смесени предилни разтвори на двата полимера в трифлуороцетна киселина, при масово съотношение PLDLLA/Ch-8Q 50:50 и 70:30. Прави впечатление, че измерените динамичния вискозитет на предилните разтвори се понижава в присъствие на Ch-8Q, а именно: чист PLDLLA - 4200 cP; немодифициран хитозан - 1900 cP; PLDLLA/Ch-8Q 70:30 - 1700 cP; PLDLLA/Ch-8Q 50:50 - 940 cP. Отбелязано е, че матовете, получени от последния състав, са твърде крехки за биологични експерименти и затова за следващите изследвания е избран състав PLDLLA/Ch-8Q 70:30, при която се постига добра обработваемост и механична устойчивост на влакната. Не става ясно на каква база/анализ се прави това уточнение. Анализът на морфологията на влакнестите материали с различен състав (чист PLDLLA и негови смеси с немодифициран и модифициран хитозан) показва еднозначно, че включването на Ch-8Q в състава на влакната има негативен ефект по отношение на тяхната еднородност и хомогенност. Например, влакната от чист PLDLLA имат среден диаметър 360 ± 90 nm, а тези от PLDLLA/Ch-8Q (70:30) са със среден диаметър 187 ± 128 nm. Прави впечатление високата стойност на средното стандартно отклонение при последните. Поради липса на резултати от механични изпитвания е невъзможно да се оцени доколко нееднородността на влакната оказва съществено влияние върху здравината на новите материали. На следващ етап от проучването, са формирани комплекси на влакнести материали с Cu^{2+} и Fe^{3+} йони. Посредством различни методи са изследвани детайлно химичния състав, структурата и термичната стабилност на комплексите и изходните влакнести материали. Предвид факта, че новите системи са

разработени за медицински приложения, а също така и спецификата на анализа с DSC, считам, че нагриване над 200 °C е нецелесъобразно. Обяснението, че наблюдавания широк ендотермичен пик между 25 и 100 °C се свързва с десорбция на вода или остатъци от TFA за мен не е убедително. Биологични тестове доказват висока антибактериална (*S. aureus*) и антитуморна (MCF-7 и HeLa клетки) активност на матовете от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} , което демонстрира потенциала на новите системи за разработване на биомедицински изделия. Същевременно, трябва да се отбележи и факта, че експериментите с нормални (неракови) клетки (BALB/c 3T3 миши фибробласти), след 72 часа въздействие (инкубиране), показват тревожно нисък процентът на преживяемост на клетките: $35,3 \pm 4,0\%$ за комплекси с Fe^{3+} и $5,4 \pm 3,7\%$ за комплекси с Cu^{2+} . Единствено при влакнестите материали от LDLLA/Ch-8Q се наблюдават висока преживяемост ($90,0 \pm 12,2\%$). Опитно е установено, че при култивиране на нормални BALB/c 3T3 миши фибробласти в присъствие на Cu^{2+} и Fe^{3+} комплекси на матовете от PLDLLA/Ch-8Q, се наблюдават морфологични изменения на клетките и ядрата, характерни за ранна и късна апоптоза. Важно е да се отбележи, че цитотоксичността е основна характеристика на всеки новоразработен материал, предвиден за употреба в хуманната и ветеринарната медицина. Според мен, независимо от високата антитуморна активност на комплексите, е необходимо да се направи по-задълбочена оценка относно условията и начина на тяхното практическо приложение.

Глава 2

Приложен е комплексен подход за получаване на хибридни материали, съставени от PLDLLA мат, с включени Fe_3O_4 наночастици, при който по повърхността на влакната са прикрепени ZnO наночастици с помощта на кватернизиран хитозан (QCOS). Така получените хибридни материали ($\text{ZnO}/\text{QCOS-on-(Fe}_3\text{O}_4\text{-in-PLDLLA)}$) се характеризират с фотокаталитични и магнитни свойства. Същността на метода за получаване се състои в едновременно електроовлажняване на разтвор на PLDLLA с диспергирани в него наночастици от Fe_3O_4 и електроразпръскване на разтвор на QCOS с диспергирани ZnO частици. Отбелязано е, че за изготвянето на предилния разтвор на PLDLLA е използвана смес от разтворители DCM/DMF, в съотношение 3:1 (v/v), и че до момента на експеримента, не са открити публикувани данни за използването на тази конкретна разтворителна система за електроовлажняване на PLDLLA. Друг съществен елемент, определящ ефективното фиксиране на електроразпръснатите наночастици от ZnO по повърхността на влакната е добавянето на оптимално количество QCOS към предилния разтвор. Чрез подходящи анализи е установено, че наличието на неорганичните частици влияе върху термичните свойства и кристалната структура на електроовлакнените материали. За първи път е оценена антиоксидантната активност на влакнести материали, съдържащи ZnO , чрез DPPH тест за улавяне на свободни радикали, а фотокаталитичната активност е проучена чрез разграждане на метиленово синьо (моделен органичен замърсител) при облъчване с УВ светлина. Свойствата на $\text{ZnO}/\text{QCOS-on-(Fe}_3\text{O}_4\text{-in-PLDLLA)}$ материали са оценени на база сравнение с други влакнести материали, съдържащи един или повече от компонентите - PLDLLA, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-in-PLDLLA}$, $\text{ZnO}/\text{QCOS-on-PLDLLA}$. С помощта на TEM и SEM анализи е показано разпределението на Fe_3O_4 частици във вътрешността на влакната и на ZnO частици по повърхността им. Видно от

снимките е, че и при двата вида частици се наблюдават основно агломерати. Не е описано (предварително) проучване как са избрани изходните количества от двата вида наночастици и дали това е оптималното съдържание. Доказано е, че при облъчване с УВ светлина на воден разтвор на метиленово синьо в присъствието на влакнестите материали от вида ZnO/QCOS-*on*-PLDLLA и ZnO/QCOS-*on*-(Fe₃O₄-*in*-PLDLLA) около 90 % от багрилото се разгражда за 3 часа. Също така, високата фотокаталитичната активност на хибридни материали се запазва след 5 цикъла на употреба. Не са налични данни за механичните свойства на материалите.

По същество приемам формулираните от докторантката научни приноси относно получаването за първи път на: i) Шифова база на хитозана чрез модификация с 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид и ii) нови хибридни влакнести материали на основата на PLDLLA и производно на хитозана чрез електроовлажняването и електроразпръскване.

Съответствие между автореферата и дисертационния труд

Авторефератът е изготвен съгласно изискванията и съдържа всички съществени резултати от дисертационния труд.

Критични бележки и коментари

Дисертационният труд като цяло е добре оформен, текста е написан стегнато и е лесен за възприемане. В голяма степен резултатите са представени ясно и нагледно, а тяхната интерпретация е правилна. Включени са данни от голям набор от аналитични методи, което безспорно допринася за по-пълното охарактеризиране на материалите. В опита да се консолидират данни от различни системи, един от направените изводи не е достатъчно точен. Счита за спекулативно твърдението, че комплексите на влакнести материали от PLDLLA/Ch-8Q с Cu²⁺ и Fe³⁺, при които преживяемостта на нормалните клетки е прекалено ниска, са подходящи материали за приложение за лечение на рани и за локално лечение на ракови заболявания. Логичният извод от наличните данни е, че тези материали не са подходящи за медицински приложения. Според мен оригиналните елементи на втората разработка се отнасят за състава и структурата на материалите и използвания смесен разтворител, а не за подхода за получаване. Бих препоръчал употребата на термините *молна маса* вместо *молекулна маса*; *масово съотношение* вместо *тегловно съотношение*; *термична деструкция* вместо *термично разлагане*. Също така, препоръчвам в бъдещи проучвания да се изследват механичните свойства на влакнестите материали, като *якост на опън*, *модул на еластичност* и *удължение при скъсване*.

Относно част от експериментите, имам следните въпроси:

- При синтеза на Шифовата база на хитозана, защо е необходимо да се добавя абсолютен етанол към водния разтвор на полимера, преди прикапването на реагента 8-хидрокси-хинолин-2-карбоксалдехид, който също е разтворен в етанол?

- В гореописаната реакция е използван хитозан със средна вискозиметрична молна маса 380000 g/mol и степен на деацетилиране 80%. Как са изчислени моловете полимер (2.5 g, 14.8 mmol) ?
- От предоставените данни за динамичния вискозитет (стр. 50) става ясно, че предилните разтвори на Шифовата база на хитозана имат по-нисък вискозитет от разтвора на немодифицирания хитозан. Как бихте обяснили това, предвид факта, че теоретично молната маса на модифицирания полимер е по-висока от тази на изходния хитозан?
- След 3 часа облъчване с УВ светлина хибридните материали, съдържащи ZnO разграждат 90 - 92 % от моделния замърсител. Възможно ли е (и при какви условия), този резултат да се подобри?

Заклучение

Представеният от ас. Ина Анастасова дисертационен труд за присъждане на ОНС „доктор“ е оригинален и съдържа достатъчно по обемът и качеството научни резултати. Дисертацията има принос за обогатяване на знанията в областта на биоразградимите влакнести материали и полимерни-неорганични хибридни системи. Продукцията на докторантката удовлетворява минималните изискванията на ЗРАСРБ и не са открити признаци на плагиатстван текст. Направените от мен забележки имат формален характер и не променят по същество положителното ми мнение за качествата на дисертацията. Въз основа на гореизложеното, препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да гласуват за присъждане на ОНС „доктор“ на ас. Ина Анастасова.

София, 06.02.2026 г.

Рецензент:

/чл.-кор. Петър Петров/