Р Е Ц Е Н З И Я

от **проф. д-р инж. Петър Тодоров Тодоров**
на дисертационен труд на **маг. хим. Здравка Христова Захариева**
на тема: “Разработване и валидиране на методи за определяне на необявени субстанции в хранителни добавки” за придобиване на образователна и научна степен “доктор” по научна специалност
4.2. Химически науки (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества)

1. Кратки биографични данни и характеристика на научните интереси на кандидата

Докторант маг. хим. Здравка Захариева е завършила висшето си образование в СУ “Св. Климент Охридски”, Химически факултет, като бакалавър по специалност “Химия”, направление “Органична химия” и като магистър по специалност "Съвременни спектрални и хроматографски методи за анализ" през 2006 г. с отличен успех. От 01.05.2017 г. тя е зачислена, като редовен докторант в катедра Биотехнология на Химикотехнологичен и металургичен университет под прякото ръководство на проф. д-р инж. Данчо Даналев. Докторант Захариева е положила в срок и с отличен успех предвидените в индивидуалния план дисциплини.

От 2006 г. до 2010 г. докторант Здравка Захариева работи като химик в отдел качествен контрол на Софарма АД. От 2010 г. до 2015 г. е ръководител лаборатория към Медитрайл Интернешънълс ООД. В периода 22.06.2015 г. до 14.11.2021 г. работи като ръководител отдел Качествен контрол на лекарствени продукти в ИЦ Глобалтест ООД. От 15.11.2021 г. до момента маг. хим. Здравка Захариева заема длъжността Директор Качество към Неофарм България ЕООД.

През годините, докторант Захариева е придобила редица допълнителни квалификации/специализации в сферата на нейните интереси - съвременни спектрални и хроматографски методи за анализ, разработване и валидиране на методи за определяне на природни и

физиологично активни вещества, фармацевтичен анализ и др.

2. Преглед на дисертационния труд и анализ на резултатите

Дисертационният труд се отнася до една актуална за хроматографския анализ тематика, а именно разработването и валидирането на нови и усъвършенстването на вече известни методи за едновременна детекция на необявени субстанции в различни хранителни добавки. Темата за хранителните добавки е особено актуална в наши дни, тъй като те могат да бъдат както полезни, така и да причинят непредвидими рискове за човешкото здраве. Ето защо контролът върху съдържанието и качеството на всички хранителни добавки и субстанции е от изключителна важност.

Дисертационният труд е представен на 155 страници, от които 48 страници подробен Литературен обзор, базиран на 144 източника. Добро впечатление прави умението на докторанта да обобщава експериментални данни и да илюстрира направените изводи чрез подходящо оформени таблици (57 на брой) и фигури (77 на брой).

В литературния обзор дисертантката е дала общи данни за регулацията и основните методи за анализ на необявени субстанции на различни хранителни добавки за отслабване и еректилна дисфункция. Обърнато е и особено внимание на биоаналитичните техники, намерили приложение за анализ и контрол на забранени субстанции в подобен тип хранителни добавки. Специално внимание е отделено и на хранителните добавки при спорт, в частност на недекларираните съставки на хранителни добавки. Дадени са химичните структури на някои от анаболните стероиди и разяснения на най-често използваните и забранени от антидопинговата комисия субстанции, приемани от спортисти. От литературния обзор става ясно, че дисертантката се е запознала много добре с литературните сведения по темата и свободно борави с тях. Въз основа на това, точно и ясно е формулирана целта на дисертационния труд и са определени съответните 3 задачи за изпълнение.

Експерименталната част заема 9 страници. Тя е написана кратко, точно и ясно, и съдържа необходимата информация за изпълнение на

описаните експерименти. Разработени и валидирани са следните методи:

- за едновременно определяне на силденафил, варденафил, тадалафил, йохимбин, дапоксетин и сибутрамин в моделна матрица. Анализите са извършени на апарат Shimadzu LC 20 AD 101-GT-INS с детектор с диодна матрица, като сканирането за всички съединения е правено при λ=230 nm;
- HPLC метод за едновременното количествено определяне на 13 вещества със стероидна структура в моделна матрица. Анализите са извършени на апарат Shimadzu LC 20 AD 101-GT-INS с детектор с диодна матрица, като сканирането за всички съединения е правено при λ=254 nm. Разделянето е постигнато на аналитична колона чрез градиентно елуиране;
- GC/MS потвърдителен метод за едновременното определяне на 17 вещества със стероидна структура в моделна матрица - Анализите са извършени на апарат GC/MS Shimadzu QP2010 Ultra EI, като сканирането за всички съединения е правено едновременно в Scan и SIM режим.

В раздела Резултати и дискусия, заемащ 70 страници, дисертантката разглежда следните три направления:

- Разработване и валидиране на метод за едновременно определяне на 6 контролирани субстанции йохимбин, варденафил, силденафил, тадалафил, дапоксетин и сибутрамин в матрица хранителни добавки за полова мощ и за отслабване с помощта на HPLC/UV;
- Разработване и валидиране на метод за едновременно определяне на 13 контролирани субстанции със структура на анаболен андрогенен стероид в матрица хранителни добавки за спорта с помощта на най-достъпната хроматографска техника HPLC/UV.
- Разработване на потвърдителен метод за едновременно определяне на 17 контролирани субстанции със структура на анаболен андрогенен стероид в матрица хранителни добавки за спорта с помощта на GC/MS.

Проведена е огромна по обем научно изследователска работа,

която е описана съгласно изискванията. Извършено е успешно оптимизиране на хроматографските условия, като специално внимание е отделено и на общото време на работа, възпроизводимост на времената на задържане, разделяне на всички пикове и формата на пика, разделителната способност и симетрия. Разработеният нов метод е валидиран по различни параметри: Селективност на метода и идентификация на търсените съединения; Линейност; Повторяемост на метода, точност и аналитичен добив.

Успешно е разработен и валидиран съгласно стандартите прост, бърз и евтин HPLC метод, подходящ за количествен и качествен рутинен контрол на едновременното определяне на 6 забранени активни субстанции йохимбин, варденафил, силденафил, тадалафил, дапоксетин и сибутрамин в хранителни добавки и фармацевтични продукти. Избраната мобилна фаза прави метода приложим за LC-MS анализ. Разработена е градиентна програма за въвеждане на мобилната фаза за постигане на добро разделяне на всичките 6 вещества за сравнително кратко време - 20 минути. Също така успешно е разработен евтин и широко приложим HPLC метод за едновременно количествено определяне на 13 от най-често срещаните вещества със стероидна структура: тестостерон, тестостерон пропионат, тестостерон енантат, метилтестостерон, нандролон, нандролон пропионат, нандролон деканоат, метандиенон, андростендион, тренболон, тренболон ацетат, тренболон енантат, болденон ундециленат в хранителни добавки за спорта.

Успешно е разработен и потвърдителен GC/MS метод, който може да се използва и за скрининг за определяне наличието или отсъствието на 17 от най-често срещаните вещества със стероидна структура: тестостерон, тестостерон пропионат, тестостерон енантат, метилтестостерон, нандролон, 4-хлородехидрометилтестостерон, нандролон фенилпропионат, нандролон деканоат, метандиенон, андростендион, дростанолон пропионат, дростанолон енантат, тренболон ацетат, тренболон енантат, болденон ундециленат, оксандролон, станозолол в хранителни добавки за спорта.

3. Оценка на съответствието между автореферата и дисертационния труд

Авторефератът /37 страници/ отговаря на изискванията на Правилника на ХТМУ и отразява напълно резултатите от проведените изследвания.

4. Характеристика и оценка на приносите в дисертационния труд

Научните постижения в дисертационния труд са представени чрез три извода и приноса:

- ✓ Разработен и валидиран съгласно ICH Harmonised Tripartite Guideline Validation of Analitical Procedures: text and methodology Q2(R1) е течнохроматографски метод с УВ детекция за определяне на 6 забранени активни субстанции в хранителни добавки за еректилна дисфункция и отслабване, като успешно е внедрен в лабораторията за качествен контрол на фирма Неофарм България ЕООД.
- ✓ Разработен и валидиран съгласно съгласно ICH Harmonised Tripartite Guideline Validation of Analitical Procedures: text and methodology Q2(R1) е течнохроматографски метод с УВ детекция за определяне на 13 вещества със стероидна структура в хранителни добавки за спорта и успешно внедрен в лабораторията за качествен контрол на фирма Неофарм България ЕООД.
- ✓ Разработен е потвърдителен GC/MS метод, който може да се използва и за скрининг за определяне наличието или отсъствието на 17 вещества със стероидна структура в хранителни добавки за спорта.

Приносите на изследванията имат научно-приложен характер и отразяват представените резултати.

5. Мнение за публикациите на дисертанта по темата на дисертационния труд

Резултатите от дисертационната работа са отразени в 2 реферирани специализирани списания, от които една в списание с IF и

една с SJR. Трябва да се отбележи, че публикациите включват основните дисертационни резултати. При това и в двете докторантът е първи автор, което говори за ключовата му роля при провеждане на научните изследвания. Част от описаните резултати са публикувани в международното списание - *Acta Chromatographica* (IF= 1,639; Q3). Публикацията е посветена на разработването и валидирането на HPLC/DAD метод за едновременно определяне на шест забранени вещества в моделни матрици. Друга част от резултатите са публикувани в *Journal of Chemical Technology and Metallurgy (SJR 0.22, Q3)*. Публикацията е посветена на определянето на някои забранени вещества в хранителни добавки, с помощта на високоефективна течна хроматография с мас- или УВ-детекция.

Представени са и 9 участия с доклади и постерни съобщения по темата на дисертационния труд на научни форуми в България и чужбина.

6. Критични бележки и коментари

Нямам критични забележки по същество. Дисертацията е написана ясно и точно на високо научно ниво. В работата се забелязват някои стилни и печатни грешки.

7. Лични впечатления за дисертанта

Не познавам лично маг. хим. Здравка Захариева и не съм имал професионални контакти и изследвания с нея. Но съм с много добри впечатления от представянето на дисертационния й труд пред разширения катедрен съвет при катедра “Биотехнологии”, където с голяма увереност представи научната си работа.

8. Заключение

Представеният дисертационен труд е напълно дисертабилен, с оригинален принос за науката в една интересна и перспективна за приложение област, каквато е хроматографският анализ на различни природни и физиологично активни вещества. Получените резултати са актуални и имат научно-приложен характер. Направените изводи са подкрепени от достатъчен обем експериментални резултати. По време на

разработването на дисертационната работа, маг. хим. Здравка Захариева е усвоила и надградила различни методи и техники за анализ и изследване, които са тълкувани много добре с разбиране и на добър научен език. Резултатите са представени в 2 научни публикации /една с IF и една с SJR/ и 9 доклада на научни форуми. Представените материали и резултати напълно съответстват на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за условията за реда на придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в Химикотехнологичен и Металургичен Университет – София.

Въз основа на изложеното по-горе, с убеденост давам положителна оценка на дисертационния труд на маг. хим. Здравка Христова Захариева и препоръчвам на уважаемите членовете на научното жури да подкрепят присъждането й на образователна и научна степен "доктор" по научна специалност *4.2. Химически науки (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества).*

20.04.2022 г. Рецензент:

гр.София /проф. д-р инж. Петър Тодоров/