

СТАНОВИЩЕ

върху дисертационен труд на тема:

«Изследване на анти-обезогенен потенциал на екстракти от *Alchemilla monticola* Opiz и *Ononis spinosa* L. за контрол на затлъстяване в *ин vitro* и *ин vivo* модели»

за присъждане на образователната и научната степен „Доктор“
в област на висше образование 5. Технически науки,
професионално направление 5.11. Биотехнологии
докторска програма «Технология на биологично активните вещества»
на инж. Савета Георгиева Младенова
с научен ръководител: **проф. д-р Милен И. Георгиев**

От: проф. д-р Светла Трифонова Данова, дн.;
Институт по микробиология „Стефан Ангелов“/ БАН,

1. ОТНОСНО ПРОЦЕДУРАТА:

На основание Решение на Научния съвет на Институт по Микробиология „Стефан Ангелов“-БАН (*Протокол № 8/30.10.2026 г.*) и Заповед (*№ I-98 /30.06.2026 г.*) на Директора съм избрана за член на Научно жури, в съответствие с чл.4 на ЗРСРБ и чл. 29 от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и звания в ИМикб-БАН.

Декларирам, че нямам общи публикации, проекти или конфликт на интереси от друг характер по смисъла на ал. 1 т. 3 и 5 от ЗРАСРБ с оценявания кандидат за придобиване на ОНС „Доктор“.

2. ОЦЕНКА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

2.1. Актуалност на разработвания в дисертационния труд проблем

Представеният ми за рецензия дисертационен труд е модерна научна разработка в отговор на сериозно научно предизвикателство каквото е затлъстяването. Наричано е пандемията на 21 век, поради бързо нарастващото разпространение сред възрастни и деца, с тежки социални, икономически и здравни последици. Докторантката го разглежда като многофакторно метаболитно заболяване, при което нарушенията в енергийния баланс и регулацията на мастната тъкан са свързани с хронично нискостепенно възпаление и повишен риск от диабет тип 2, сърдечно-съдови и метаболитни заболявания, чернодробна стеатоза и някои онкологични заболявания. Сложната и многофакторна патогенеза на затлъстяването определя необходимостта от търсене на нови, многоцелеви терапевтични подходи. В този контекст лечебните растения и техните биологично активни съединения представляват перспективен

природен ресурс, тъй като многокомпонентния им състав позволява едновременно въздействие върху различни метаболитни и молекулярни механизми. Докторантката правилно оценява, че прилагането на съвременни „omics“ подходи – метаболомика, транскриптомика и протеомика – създава възможност за по-задълбочено разкриване на механизмите на действие и идентифициране на нови природни агенти с анти-обезогенен потенциал. Поради това изследването на природни продукти, като източник на ефективни и многоцелеви средства за превенция и контрол на затлъстяването е научно актуално. Всичко това ми дава основание да оценя като много актуална научно-фундаментална и със значителен потенциал за практическо приложение научна разработка.

2.2 Литературната осведоменост и теоретична подготвеност на кандидата

Литературният обзор е отлично структуриран, стегнат и точно фокусиран върху темата на дисертационния труд. Балансирано са представени актуални научни данни за биологична активност, традиционна употреба и фитохимична характеристика на *Alchemilla monticola* Opiz (цариче) и на *Ononis spinosa* L. (гръмотрън) в качеството си на основни проучвани лечебни растения и в логическа последователност данни за механизмите на затлъстяването. Специално внимание е отделено на патологично разрастване на мастната тъкан и ролята при затлъстяване, експериментални модели на затлъстяване, свързвайки тези две части с обобщаващ раздел, посветен на подходите за контрол и терапия на затлъстяването. Направеният литературен преглед доказва научно-приложното значение и перспективността на нови изследвания на лечебните растения. Така логически е изведена целта на дисертационния труд: «Изследване влиянието на екстракти от цариче (*A. monticola*) и гръмотрън (*O. spinosa*) и техни вторични метаболити върху адипогенезата и натрупването на липиди при *in vitro* модел на човешки адипоцити и последващо *in vivo* валидиране на най-значимите резултати при нематоди от вида *C. elegans*». За постигането и са формулирани 6 логически свързани задачи.

Дисертацията подчертано има интердисциплинарен характер и изисква сериозна теоретична и експериментална подготовка в областта на биохимичните и метаболомните, клетъчни и молекулярно-биологични *in vitro* и *in vivo* изследвания. Това личи както от изпълнение на 5^{те} експериментални задачи така и по начина на представяне на резултатите. Впечатляващ е броят на цитираните литературни източници - 237, с преобладаване на тези от последните 10-15 години. Целият труд е написан в стегнат научен стил, граматически издържано и много добре технически оформен на 109 стандартни страници. Резултатите са илюстрирани с 24 цветни фигури (5 от които в литературния обзор) и 7 таблици. Една интердисциплинарна разработка, в като правилно са използвани актуална научна терминология

както в областта на ботаниката, биохимията, и молекулярната биология фитохимия и са интерпретирани резултатите.

2.3. Анализ на методичните подходи за постигане целта на дисертационния труд

Докторантката е използвала впечатляващ набор от различни модерни методични подходи, с доказана възпроизводимост и релевантност на получаваните данни. За избраните лечебни растения, е отбелязано находището, спазвайки решенията на протокола от Нагоя. Високо оценявам избора на обекта, експерименталната логика и последователност в разработката и съчетаването на добре представените модерни методични подходи в иновативен протокол. Този оригинален протокол съчетава ЯМР-базирано метаболитно профилиране, молекулен докинг анализ и идентифициране на потенциално биоактивни растителни метаболити с последващо *in silico* предвиждане на молекулни взаимодействия и *in vitro* валидиране в човешки адипоцити до изясняване на молекулни механизми на антиадипогенеза. Затова допринасят внимателно дизайнвани *in vivo* експерименти с използването на нематоди *Caenorhabditis elegans*. Тук искам да отбележа включването в логическа последователност на *in vivo* панел от тестове като *Тест за жизнеспособност* и двигателна активност при нематоди и определянето на глюкозо-предизвикано натрупване на липиди при *C. elegans*; Детекция на протеин чрез имуноблот, количествена полимеразна верижна реакция в реално време (*RT-qPCR*) за анализ на РНК и микроРНК в *in vivo* модела на дивия вариант на *C. elegans*. Това е оригинална експериментална платформа с методологичен принос защото успешно може да се прилага в оценката и на други лечебни растения или техни полезни ефекти.

2.4. Оценка на постигнатите резултати и приноси на дисертационния труд

Целта на дисертацията е амбициозна, постигната е с решаване на панела от 6 задачи, като дори и първата задача - литературната справка по проблем има важен **методологичен принос** – представя оригинален начин за интегриране на метаболомни, компютърни/*in silico* подходи и клетъчни модели. Докторантката получава и охарактеризира екстракти от етнофармакологично-прилагани лечебни растения *Alchemilla monticola* Opiz (цариче) и *Ononis spinosa* L. (гръмотрън) гръмотрън и техни специфични метаболити. ЯМР - базирано метаболитно профилиране визуализира органични киселини и флавоноидните представители – астрагалин, катехин, кверцетин, кверцетин-3-*O*- β -глюкуронид, кверцитрин, изокверцетин, рутин, ванилова киселина и витексин в екстрактите от наземните части на цариче. Метаболитното профилиране на екстракт от корени на гръмотрън също е извършено чрез анализ на едно- и двумерни ЯМР спектри, доказвайки ононин, сативанон, оногенин и маакияин.. Докторантката не се ограничава с емпирично изследване състава на двата растителни екстракта, а надгражда с последващи докинг молекулярен анализ и *in silico* оценка

на потенциални взаимодействия с белтъчни молекули. Така са избрани конкретни растителни метаболити, което позволява да се премине от корелация към научно-доказано разкриване на ефекта. Така научно базираната хипотеза за анти-обезогените механизми на действие на тези вещества обективно е оценено с панела от *in vitro*, *in silico* и *in vivo* експерименти. Това вече е качествено развитие на изследването. Не мога да не отбележа факта, че работата представя един непроучен аспект от потенциала на двете лечебни растения, като идентифицира конкретни биоактивни кандидати с анти-обезогенен ефект. Оценени са цитотоксичност, генна експресия на гени от важни метаболитни пътища и анти-адипогенния потенциал на екстрактите от *A. monticola* и два метаболита астрагалин (AST) и кверцетин (QUE) при *in vitro* модел на човешки адипоцити и на екстракт от *O. spinosa*, ононин (ONON) и маакийин (MACK).

Получени са важни научно-фундаментални и приложни резултати, при това вкл. с *in vivo* клетъчни експерименти. Напр. оценен е дозозависимо и статистически значимо намаляване на липидното натрупване при глюкозно-индуцирания модел и третиране с MACK. Нещо повече, докторантката включва *in vivo* тестове с *C. elegans*, който е много удачен модел за проверка дали наблюдаваният клетъчни антиадипогенни се потвърждават като намаляване на липидното натрупване в цял организъм. Получените данни от компютърната докинг симулация, анализът на генната експресия и промените в нивата на таргетните протеини, предоставят доказателства за потенциалните механизми на анти-адипогенния ефект на екстракта от надземни части от цариче и неговия вторичен метаболит Астрагалин. Своеобразен заключителен етап са молекулярните транскриптомни анализи доказващи, че MACK и ONON повлияват експресията на множество транскрипционни фактори както от ранната, така и от терминалната фаза на адипогенната диференциация. Получените резултати са много добре илюстрирани с цветни фигури. Докторантката много успешно използва топлинните диаграми за да онагледят ефектите на многофакторните анализи, но бих препоръчала при генна експресия да избягва обобщаването в термична скала минимум-макс. Поради множеството резултати, особено, данните от клетъчните, qPCR и *in vivo* експерименти, бих препоръчала малко по-критично структурирана и по-аналитична дискусия, която ясно да открие значимостта и оригиналните приноси на докторантката и екипа от Лабораторията по Метаболомика. Тази бележка не намалява безспорните научни достойнства на цялостната разработка, напротив-ясно ще покаже значимостта на работата. Неоспоримите доказателства за тази висока оценка са трите публикации, публикувани във високо цитируеми международни издания, чийто първи автор е инж. Савета Младенова. Това доказва нейната ерудиция, теоретична и експериментална подготвеност и личното участие на докторантката, подкрепено с разделителен протокол (доказващ водеш принос от 50%). Трите статии към днешна дата са цитирани общо 63 пъти, което е безспорен атестат за признание в международната научна общност.

Направените 6 изводи са логическо следствие от представените резултати и доказват една цялостна, комплексна и на много високо научно ниво докторска дисертация. Напълно приемам формулираните 7 научно-фундаментални и научно-приложния принос, като искам да отбележа, че те скромно отразяват само част от безспорните научни постижения.

Към докторантката имам следните въпроси:

1) Защо изследва наземни части от цариче и само корен от гръмотрън?

2) Доколко оценката на изследваните метаболити и растителни екстракти ни доближават до получаването на така желаните анти-обезогенни естествени форми в помощ на борбата със затлъстяването, с инсулиновата резистентност и какво е мнението за възможен синергичен ефект при комбиниране между изследваните растителни метаболити/екстракти на двете лечебни растения.

АКЛЮЧЕНИЕ

В заключение искам да обобща, че като цел, обем, резултати и приноси дисертацията напълно изпълнява и надвишава многократно изискванията за получаване на ОНС „Доктор“. Темата и целта на дисертацията са оригинални и иновативни. Методите са правилно подбрани, сред най-модерните и са методично адаптирани към изследването на 2 етнофармакологично-прилагани лечебни растения *Alchemilla monticola* Opiz (цариче) и *Ononis spinosa* L. (гръмотрън). Материалът е дисертабилен и лично дело на докторантката. Въз основа на гореизложеното уверено мога да заявя, че рецензираният дисертационен труд представлява оригинална научна разработка, с теоретично и приложно значение. Дисертацията отговаря на всички условия на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника на ИмикБ-БАН

Всичко това ми дава основание за цялостна висока оценка на дисертационния труд, въз основа на която предлагам на уважаваното научно жури да присъди на **инж. Савета Георгиева Младенова** образователната и научна степен „ДОКТОР“ в област на висше образование 5. Технически науки, професионално направление 5.11. Биотехнологии докторска програма «Технология на биологично активните вещества».

Гр. София, 21.08.2026 г.

проф. Светла Т. Данова, дн.