

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Мартин Петров Цветков

Факултет по химия и фармация СУ „Св. Климент Охридски“

член на научно жури, определено със заповед № РД-38-649 от 09.10.2025 г.

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен

„Доктор“

по професионално направление 4.2 Химически науки (Неорганична химия)

Автор: Марко Димитров Костадинов

Тема: Наноструктурирани и аморфни калций-съдържащи фосфати като потенциални имунологични адюванти

Научен ръководител: доц. дн Георги Георгиев Йорданов

Описание на процедурата

Марко Димитров Костадинов е зачислен за докторант в свободна форма на обучение по професионално направление 4.2. Химически науки, докторска програма „Неорганична химия“ със заповед № РД 20-1737/30.09.2024 г. на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“. Отчислен е с право на защита със заповед № РД 20-1778/06.10.2025 г.. Той е положил успешно изпит по специалността, който е заложен в индивидуалния му план. Представените материали по процедурата за присъждане на ОНС „Доктор“ отговарят на изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото прилагане и Условието и реда за придобиване на научна степен и заемане на академична длъжност в СУ „Св. Климент Охридски“ и включват: копие на дипломи за придобити бакалавърска и магистърска степени, дисертационен труд, автореферат (на български и английски език), копия на научните публикации по темата на дисертацията (две на брой), справка за съответствие с минималните национални изисквания за ОНС „доктор“ за ПН 4.2. (Химически науки), автобиография, декларация за оригиналност и достоверност, протокол за проверка на оригиналност на дисертационния труд и становище от научния ръководител във връзка с процедурата за предотвратяване на плагиатство.

Кратки биографични данни

Марко Костадинов се дипломира като бакалавър по специалност „Химия“ в СУ „Св. Климент Охридски“, Химически факултет, през 2003 г. През 2023 г. придобива степен „магистър“ по „Химия и информатика“, магистърска програма „Учител по химия“ във ФХФ на СУ. От юли 2008 г. Марко Костадинов е назначен за асистент по неорганична химия в СУ „Св. Климент Охридски“, където продължава да работи до днес.

Цел на дисертацията и актуалност на тематиката

Дисертационният труд е посветен на синтеза и охарактеризирането, а бих добавил и преоткриването, на неорганични адюванти на основата на калций-съдържащи фосфати. Адювантите като добавки играят важна роля в подобряване и засилване на имунният отговор и са неразделна част към ваксините против тетанус, дифтерия, коклюш, хепатит А и В и др.. Независимо от това обаче пълното разбиране на механизма на тяхното действие остава неразбран. Още повече макар и да е известно, че калций-съдържащите фосфати имат потенциално действие като неорганични адюванти (и са използвани в миналото), то днес тяхното приложение е ограничено за сметка на използването на алуминиеви съединение, което е научно необосновано. Не на последно място актуалността на тематиката се подчертава и от световните събития в последните години, които показаха нуждата от разработване на нови, безопасни и ефективни ваксини.

Преглед на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на български език и съдържа 119 страници, в които са включени 80 фигури, 19 таблици и са цитирани 127 литературни източници. Работата е структурирана в следните раздели: увод (2 стр.), литературен обзор (24 стр.), цели и задачи (1 стр.), материали и методи (7 стр.), резултати и обсъждане (77 стр.), обобщение на резултатите (2 стр.), основни приноси (1 стр.), библиографско описание на цитираните литературни източници (9 стр.) и списък с използвани съкращения, означения, величини и константи (2 стр.). Към дисертационния труд са предоставени два автореферата, на български (40 стр.) и английски език (40 стр.), в които коректно и пълно са отразени основните резултати и приноси на дисертационния труд.

Литературният обзор е структуриран в седем части, като в първата стегнато, но достатъчно информативно са очертани основните исторически моменти свързани с откриването и прилагането на ваксинални адюванти. Във втората част ас. Костадинов е разгледал основните видове адюванти като е разделил тази част на три подчасти, в които е разгледал лицензираните и не лицензираните адюванти, както и тези използвани при алерген-специфична имунотерапия. След това е разгледан накратко механизмът на действие на неорганичните адюванти, последван от внимателно представяне на ползите и рисковете от тяхното прилагане. В петата част от литературният обзор са разгледани ползите при използването на калциеви фосфати като адюванти и е обърнато специално внимание върху факта, че калций се среща естествено в човешкото и е биоразградим. Разбира се, обърнато е внимание и на някои недостатъци на тези адюванти като разнообразните химични форми, под които се получат както и това, че те могат да преминават една в друга, което е нежелан ефект. Литературният обзор завършва в преглед върху често използваните методи за синтез, особено на калциеви фосфати (методи на Раливелд и Хъ), както и върху структурата и свойствата на получените материали, като е обърнато внимание на недостатъчната информация в литературата относно свойствата на така получените калциеви фосфати.

В **материали и методи** са представени основните използвани химикали, методи за синтез и за охарактеризиране. С характерният за ас. Костадинов афинитет към изпипване на детайлите е направена проверка на концентрацията на изходните разтвори (чрез комплексометрично и/или потенциометрично титруване), както и проверка надеждната работа на използваната инфузионна помпа.

Резултатите от дисертационната работа и тяхното обсъждане от дисертационната работа следват поставените научни задачи. Работата е изпълнена старателно и систематично. Аналитичните методи са разработени последователно и съобразно междинните резултати, получени в процеса на изследванията. Получените данни са представени и дискутирани компетентно с не малка степен на самокритичност, като са сравнени с наличната в научната литература информация.

Заклучения и научни приноси

Приносите на дисертационния труд са с научен и научно-приложен характер. Следвайки направените от асистент Костадинов заключения, научните постижения могат да се дефинират както следва:

1. Синтезиран е наноструктуриран магнезиев уитлокит от водни разтвори на CaCl_2 , MgCl_2 и Na_2HPO_4 и последващо нагряване при различни температури за различно време. Установено е, че утаяването при стайна температура води до смеси от микрокристален брушит и аморфен калциев магнезиев фосфат, които при нагряване образуват различни продукти с променлива морфология и кристална структура в зависимост от началното молно отношение Ca:Mg . Доказано е, че нанокристален магнезиев уитлокит се получава при начални молни отношения Ca:Mg от 65:35 до 85:15. Констатирано е, че след промиване на утайките с физиологичен разтвор, адсорбционният капацитет за моделен протеин (HSA) се повишава многократно – в зависимост от използваното отношение Ca:Mg и вариант на топлинна обработка между 3- и 13-кратно.

2. Синтезирани са серия фосфати на калций от водни разтвори на CaCl_2 и Na_2HPO_4 , стерилизирани чрез автоклавиране. При проведените опити с различни начални отношения Ca:P продуктът преди нагряване винаги е брушит, който след автоклавиране се трансформира в смес от нанокристален апатит и микрокристален монетит. Установено е, че възпроизводимостта на адсорбционните свойства на получените суспензии е ниска, а като вероятна основна причина за това се счита липсата на разбъркване при автоклавирането. Установено е, че на времето за стареене на брушита преди подлагането му на топлинна обработка оказва съществено влияние върху адсорбционните свойства на получените материали и тяхната възпроизводимост на получените материали.

3. Разработен е двустадиен протокол за термична обработка, чийто първи етап е нагряване на кипяща водна баня, а втори – стерилизацията чрез автоклавиране. Установено е, че разбъркването по време на първата стъпка в значителна степен предотвратява образуването на нежелани големи (микрокристални) монетитни кристали,

променя съотношението на размерите им и води до образуване на смеси от нанокристален апатит и монетит, чиито свойства за свойства за адсорбция на албумин са по-постоянни. Установено е, че като междинен продукт при термичната трансформация се образува октакалциев фосфат. Показана е възможността характеристиките на нанокристалите и адсорбционната ефективност за моделен протеин да бъдат варирани чрез изменение на началното молно отношение Ca:P. Установено е, че добавянето на Tris буфер при адсорбционните експерименти влияе на резултатите както чрез стимулиране на допълнителна кристализация при по-богати на калций смеси с по-ниско рН, така и чрез промяна на дзета потенциала на частиците.

4. Синтезирани са серия проби чрез бързо смесване на водни разтвори на CaCl_2 , Na_2HPO_4 и NaOH с различни отношения Ca:P:OH, като с повишаване дела на фосфора е понижаван делът на прибавената основа. Установено е, че продуктите са стехиометричен хидроксилапатит и нестехиометричен апатит. При отношение Ca:P:OH = 5:3:4 апатитът е стехиометричен и кристалите са най-малки. Суспензиите са стерилизирани по два различни метода – чрез автоклавиране и облъчване с гама лъчи. Показано е, че автоклавирането води до слабо увеличаване на размерите на кристалите и повишаване на кристалността им, както и до понижаване на рН на суспензията. Ненагряваните и облъчените проби показват много висока ефективност при адсорбцията на HSA – между 89 и 99%, докато при автоклавирането тя възлиза на 60 – 75%. Установено е, че адсорбираният протеин е здраво свързан с наночастиците, като при десетократно разреждане на суспензиите с адсорбиран албумин само около 5-6% от албумина се освобождава за период от 20 h.

Смятам за изключително ценно прилагането на оптичната микроскопия за охарактеризиране на получените материали и по-конкретно направеният фазов анализ на база коефициентите на пречупване на светлина и двойното лъчепречупване.

Наукометрични показатели

По темата на дисертацията Марко Костадинов е съавтор на 2 научни публикации, публикувани в реномирано списание (*Journal of Materials Science*). Забелязани са два цитата на работите, отразени в системата Scopus/WoS, което е показател за актуалността на тематиката и важноста на публикуваните резултати. Според ЗРАСБ, Правилника за неговото прилагане и допълнителните критерии на ФХФ трудовете на Марко Костадинов отговарят на съответните изисквания, като ги надхвърлят (50 т.). В допълнение, дисертантът активно е участвал в научни форуми и изследователски проекти. Резултатите от проведените по дисертацията изследвания са представени на три национални конференции. Извън темата на дисертацията Марко Костадинов е съавтор на единадесет научни публикации.

Забележки и въпроси

Към докторанта имам следните забележки и въпроси:

1. В дисертационният труд неправилно е използван терминът „рентгеноструктурен анализ“. Никъде в дисертацията не се дават резултати от проведен такъв тип анализ,

който включва решаване или уточняване на кристална структура придружено с основните кристалографски параметри (вид и размер на елементарната клетка, позиция, заселеност и Дебай-Уелеровите фактори на атомите/йоните). Представените резултати от прахова рентгенова дифракция са единствено за фазов състав и частично за микроструктурни характеристики (размер на кристалити). В този контекст не е дадена информация как е изчислен размерът на кристалитите, тъй като различните методи (метод на Williamson-Hall, Scherrer и Rietveld) често дават различни стойности. Моля, да бъде дадена информация как са направени тези изчисления. Бих добавил също така, че по ТЕМ изображения се съди за размер на кристалити, а не за размер на частици, което позволява сравнение с резултатите от XRD.

2. На страница 29 е казано, че е извършен SAXS анализ, но такъв в дисертацията липсва. Дадени са само резултати от WAXS, като тук също е използван некоректен термин, а именно „спектри от WAXS” (фигура 59). Взаимодействието на рентгеновият лъч с пробата е еластично взаимодействие и се подчинява на закона на Вулф-Брег, като поради тази причина получената картина се класифицира като дифрактограма (или рентгенограма).

3. Направени са адсорбционни експерименти с калциеви фосфати в буферирани и небуферирани разтвори, като не е дадена информация каква е причината за това. Кое налага провеждането на такъв тип експерименти и как са подбрани буферите ?

Лични впечатления

Познавам лично ас. Марко Костадинов от 2012 г. когато бях зачислен като докторант към катедра „Неорганична химия“. Марко Костадинов се отличава с изключително висока ерудиция в областта на неорганичната химия, неорганичното материалознание, физикохимията и методиката на обучение по химия. Той е силно уважаван както от колегите-преподаватели във Факултета по химия и фармация, така и от студентите на които е преподавал през годините.

Не на последно място ас. Костадинов взема участие в подготовката на „Националната олимпиада по химия“ и „Националното състезание по химия“ и е на последно място е съавтор на учебници по „Химия и опазване на околната среда“ за 7-10 клас (вкл. на английски и немски език).

Заключителни бележки

Дисертационният труд на ас. Марко Костадинов е научно и методично издържан, а получените резултати имат съществено научно-приложно значение. Образователната и научната цели за придобиване на ОНС „доктор“ са постигнати – основание за това заключение ми дава извършената голяма по обем експериментална работа, при която дисертантът е придобил знания, умения и опит при дизайн на синтетични процедури, последващо детайлно охарактеризиране чрез набор от физикохимични техники на получените вещества и интерпретация на резултатите. Включените в дисертацията научни публикации са в утвърден и реномиран научен журнал, което е видно от попадането му в първи квартал (Q1).

Предвид всичко гореизложено, убедено препоръчам на уважаемите членове на научното жури да присъдят на ас. Марко Димитров Костадинов образователната и научната степен „доктор” в професионално направление 4.2 Химически науки (Неорганична химия).

22.12.2025 г.

Рецензент:

/проф. М. Цветков/