

РЕЦЕНЗИЯ

Върху дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен “доктор” в професионално направление 4.2 „Химически науки” (Физикохимия).

Автор: *Александър Симеонов Чаначев*

Катедра: „Физикохимия”, Факултет по химия и фармация, Софийски университет „Св. Кл.Охридски”.

Тема: *Нови методи за получаване и функционализиране на златни наночастици с протеини и биополимери.*

Рецензент: *доц. д-р Лидия Боянова Александрова-Григорова* от Институт по физикохимия „Акад. Р. Каишев” при БАН.

Александър Симеонов Чаначев е роден 1989 г в София. През 2013 г. е завършил Бакалавър по Компютърна химия във Факултет по химия и фармация, на Софийския университет „Св. Кл.Охридски”. През 2016 г. е завършил магистратура по химия “ Функционални материали ” във Факултет по химия и фармация, на Софийския университет „Св. Кл.Охридски”.

Зачислен е на редовна докторантура през 2015 г. към Катедра „Физикохимия”, Факултет по химия и фармация, Софийски университет „Св. Кл.Охридски”.

Дисертационният му труд се състои от пет глави представени в 81 страници. В него са включени 24 фигури, 1таблица, 14 формули и 104 литературни източника.

Последните години се отделя значително внимание на изследванията на

златните наночастици поради техните универсални приложения, включително доставка на лекарства, медицинска диагностика, биосензори, терапия на рак и други. Добре известно е, че геометрични свойства на металните наночастици, като размер и форма имат значително влияние върху структурата и стабилността на адсорбираните биологични единици, както и на нано структурните характеристики. Важно за ефективното използване на наночастиците за техните специфични цели е да се контролира размерът и формата им.

В дисертационния труд се изследва много задълбочено синтезирането и биофункционализирането на златни наночастици (GNPs). Разработена е опростена и удобна експериментална процедура за възпроизводимо модифициране с азоказеин (багрилно маркиран протеин, който се използва като субстрат за колориметрично определяне на ензимната активност) на GNPs. GNPs са функционализирани с азоказеин в стабилна суспензия с оптимизирана концентрация на азоказеин. Предложен е и експериментален подход за използване на модифицирани наночастици за изследването на ензимни реакции. Тестът за ензимната активност на протеази е реализиран при добавяне на протеаза K, която катализира специфично реакцията на хидролиза на повърхностния слой от азоказеин, адсорбиран върху златната наночастица, Изследван е хода на ензимно-каталитичната реакция, с UV-Vis спектроскопия и е анализирано изместването на максимумите на повърхностния плазмонен резонанс. За охарактеризиране морфологията и размера на функционализираните с азоказеин GNPs, са направени поредица от изображения с атомна силова микроскопия (AFM) на проби, взети в началото и в края на протеолитичната ензимно-каталитичната реакция. Стабилните суспензии от златни наночастици (GNPs), модифицирани с протеини, се използват като аналитичен инструмент за колориметричния спектрален анализ.

Разработена е експериментална процедура за възпроизводимо функционализиране с говежди серумен албумин (BSA) на златни наночастици. Функционализираните GNPs са морфологично характеризирани с помощта на атомно-силова микроскопия (AFM) и трансмисионна електронна микроскопия (TEM) и техните свойства са определени чрез UV-Vis спектроскопия. Използването на измервания с Лангмюирова везна за получаване и изследване на слоеве, формирани чрез нанасяне на граничната повърхност вода/въздух на суспензии от модифицирани с протеини златни наночастици, е един нов подход. Лангмюирови монослоеви на GNPs / BSA са изследвани чрез измерване на

изотермите на повърхностното налягане (π -A) и са намерени условията за пренасяне на филмите на Langmuir - Blodgett (LB) върху твърди пластинки от слюда. LB филми са характеризирани допълнително с AFM и TEM. Монослоеве, организирани на гранична повърхност, са удобна моделна система за изследване на механизма и кинетиката ензимно-каталитичните реакции, които протичат на гранични повърхности. Експериментално е изследвана кинетиката на повърхностен синтез на златни наночастици. Разработен е кинетичен модел на междофазната реакция на образуване на NP на границата въздух / вода. Моделът който е използван, е базиран на един от най-утвърдилите се и често цитирани в литературата класически модел на Finke – Watzky (F-W), адаптирайки го за граничната повърхност вода/въздух. При него се дефинират два ясно разграничени етапа – първият е бавното образуване на златни зародиши, а вторият е бърз автокаталитичен растеж на златни наночастици. Представените експериментални и теоретични данни демонстрират сравнително добро съвпадение между опита и теорията. От развитият теоретичен модел, чиито предсказания са сравнени с експериментални резултати, са получени оригинални важни научни заключения.

Задачите поставени в дисертацията имат важно директно биологично приложение на златните наночастици като сензори за определяне на ензимна активност и като подходящ носител на различни биомолекули, за диагностични цели, при търсенето на нови и подобряването на старите методи за целева доставка на различни лекарства, специфични научни изследвания и в различни биологични, аналитични, биохимични и медицински приложения.

В глава 1. Увод е направен интересен исторически преглед на използването на златото и златните суспензии.

В глава 2. Литературен обзор е представен накратко обектът на изследване; направен е анализ на класическите и съвременни методи за синтез и биофункционализиране на златните наночастици; коментирани са методите за синтез на златните наночастици; представени са съвременните приложения на златните наночастици и приложените различни подходи за тяхното охарактеризиране – в обемна фаза и на граничната повърхност вода/въздух; формулирани са главните задачи на дисертацията.

В глава 3. Материали и методи са разгледани цитратният синтез на

златните наночастици (AuNPs) и тяхното функционализиране със серум албумин (BSA) в течна фаза и приложените експериментални методи за охарактеризиране на тези системи. Синтезът на златните наночастици, е по класическия метод на Turkevich. Тяхната функционализация е извършена с азоказин и проби от разтвора се изследват с помощта UVVIS спектрофотометрия и Атомно-силова микроскопия. Абсорбционните спектри са измерени с използването на спектрофотометър Evolution 300 Thermo Scientific. Изображенията, получени от AFM, дават възможност да се определи размерът на златните наночастици. Експериментите на фазовата граница вода/въздух са проведени с помощта на електронна лангмюирова везна (KSV 2200, Финландия) с възможност за измерване повърхностното налягане (π) на нанесените монослое. Реакцията на синтез на златните наночастици е проведена в модифицирана Лангмюирова вана

В глава 4. Синтез и функционализиране на златни частици за биосензорни приложения е предложена възпроизводима процедура за функционализиране на метални (в частност, златни) наночастици, която впоследствие да се разработи като протоколна процедура за определяне на ензимна активност. Във връзка с функционализирането на златните наночастици, експериментално са установени рН, йонен състав, температура и пр. на колоидния разтвор които да осигурят „покриване“ на повърхността на частиците със слой или обвивка от протеин (BSA, или азоказин). За да бъде реализиран тестът за ензимна активност е изследвано добавянето на протеаза К. Протеаза К катализира специфично реакцията на хидролиза на повърхностния слой от азоказин, адсорбиран върху златната наночастица и това води до промяна на двата характеристични абсорбционни максимума. За да бъдат контролирани процесът и условията на провеждане на функционализацията, се снемат абсорбционни спектри на всеки един от двата етапа. Проведени са спектрофотометрични изследвания и са анализирани отместванията в максимумите на повърхностния плазмонен резонанс. В допълнение на тези изследвания за охарактеризиране на морфологията и размера на функционализираните с азоказин златни наночастици са направени AFM изображения на топографията на образци, които са взети в началото и в края на протеолитична ензимна реакция, катализирана от протеаза К.

В глава 5. Синтез на златни наночастици в организирана молекулна система – „монослой“ е разгледано получаването на монослое от функционализираните златни наночастици, по-точно техните π -А изотерми и

охарактеризирането на LB филми с AFM и TEM. Предлага се качествено нов подход за синтез на златни наночастици. Сериозен научен интерес представлява изясняването на повърхностната организация на самата редуциционна реакция, както и по какъв начин тази молекулна организация определя и контролира процеса на нарастване на частиците. Като редуциращ агент се използва Лангмюировия монослой на граничната повърхност вода/въздух, изграден от молекули на амфифилното съединение хексадециланилин (HDA) или от BSA, като водната подложка (течната фаза) е воден разтвор на тетрахлорзлатна киселина. В тази двумерна молекулна система всяка амфифилна молекула от монослоя на граничната повърхност вода/въздух участва във взаимодействия с металните йони от водната фаза и формиране на зародиш и растеж на металните наночастици. Появата на златните зародиши и техният растеж се следят и контролират, като се следят промените в свойствата на монослоя чрез измерване на промяната на повърхностната площ (ΔA) с времето (t), при поддържане на постоянни стойности за повърхностното налягане (π), т.е. при тези експерименти се измерват стойностите на $\Delta A(t)_\pi$. След прехвърляне на монослоя върху твърда подложка, чрез Лангмюир-Блоджет техника и анализ на получените LB филми, са определени размерът и формата на златните наночастици чрез Атомносилова микроскопия. Разработен е кинетичен модел на междуфазната реакция на образуване на NP на границата въздух / вода и са оценени кинетичните константи на редуциционната реакция (k_r), образуването на ядра (k_1) и растежа на NPs (k_2). Установено е, че скоростта на редуциционната реакция е много по-голяма от скоростта на образуване на NP. Установено е, че образуването на критични ядра и последващият им растеж под действието на редуциращия агент HDA са 100 пъти по-бързи в сравнение с действието на BSA като редуктор.

В заключителната част са отделени приносите на дисертационния труд, представен е списък на използваната литература.

Особени критични бележки по дисертацията нямам с изключение някои несъществени въпроси.

Какъв е механизъмът на адсорбция на златните наночастици върху твърдата слюдена пластинка като се има предвид, че слюдата е отрицателно заредена?

Известно е, че агрегирането на GNPs възниква по време на етапа на

подготовка на проби за AFM (Atomic Force Микроскопия) измерване. Наблюдавана ли е агрегация?

Би било добре да се посочи броят на цитиранията на публикуваните научни статии?

Дисертантът познава много добре научната литература в областта. Цитирани са 104 източника. Въведени са всички необходими понятия, направен е критичен преглед на прилаганите теоретични и експериментални подходи, използвани в дисертацията; много ясно са очертани по-важните научни постижения в научната литература по темата на дисертацията.

Дисертационният труд се основава на четири научни статии, които са публикувани в специализирани международни и български издания (една в (Colloids and Surfaces A Physicochemical and Engineering Aspects (IF= 4.539))). В три от статиите докторантът е пръв автор. Този факт, както и отличните ми впечатления от представянето на докторанта на предзащитата ми дават основания да смятам, че приносите в дисертационния труд са в значителна степен лично дело на автора. Резултатите са представяни на 3 международни и 2 български научни форуми: 1 доклад и 4 постера. Тези наукометрични данни, както и биографичните данни на кандидата са отличен атестат за Александър Чаначев и го представят като високообразован, успешен и перспективен изследовател, който може сам да поставя и решава актуални научни проблеми.

Авторефератът е направен съгласно изискванията и отразява правилно основните положения и научните приноси на дисертацията.

Авторът оставя много добро впечатление със сериозната експериментална и математическа ерудиция, умението да прави задълбочен критичен анализ на научните факти, широките теоретични познания. Научните приноси в дисертационния труд имат главно фундаментален характер могат да се определят като доказване с нови средства на съществени нови страни в съществуващи научни проблеми. Авторът е получил интересни нови данни и факти за синтезирането и биофункционализирането на златни наночастици (GNPs) в обемна фаза и на граничната повърхност вода/въздух. Предложил е нова експериментална процедура за биофункционализиране на златни наночастици с обвивка от протеини. Предложил е експериментална концепция с приложимост за бъдещи

разработки на сензорни системи, при която модифицираните с протеини златни наночастици да бъдат използвани за субстрат на протеолитични ензими като например, протеаза К, савиназа и др. Разработил е нов експериментален подход за изучаване на кинетиката на повърхностен синтез на златни наночастици. Използвайки класическият модел на F-W е предложен теоретичен кинетичен модел. Разработен е метод за пресмятане на кинетичните константи на редукционната реакция (k_r), образуването на ядра (k_1) и растежа на NPs (k_2). Кинетичните данни са представени и интерпретирани съгласно предложения теоретичен модел. Моделът допринася в значителна степен за по-доброто изясняване природата на получаването на златните наночастици на граничната повърхност вода въздух, което в явен вид е нов резултат в литературата.

Представената дисертация е в актуална научна област с голямо практическо значение и получените резултати са на високо научно ниво. Теорията е използвана за обяснение на редица експериментални наблюдения. По своя характер тези работи представляват формулиране и обосноваване на нова хипотеза, както и доказване с нови средства на съществени нови страни на съществуващи проблеми и теории.

Въз основа на всичко гореизложено считам, че предложеният дисертационен труд, като съдържание и качество, напълно удовлетворява всички изисквания на ЗРАСРБ и на препоръчителните критерии при придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ за професионално направление 4.2. „Химически науки“. Убедено препоръчвам на почитаемото Научно жури да присъди на редовен докторант Александър Симеонов Чаначев образователната и научна степен “доктор” в професионално направление 4.2. „Химически науки” (Физикохимия).

08.08.2021

РЕЦЕНЗЕНТ:



доцент д-р Лидия Александрова