

РЕЦЕНЗИЈА

**НА ДОКТОРСКАТА ДИСЕРТАЦИЈА СО НАСЛОВ „ПРИМЕНА НА
ЕЛЕКТРОДНИТЕ МЕХАНИЗМИ НА ПОВРШИНСКО-АКТИВНИ СИСТЕМИ ВО
АНАЛИТИКА НА ЛЕКОВИ – ТЕОРЕТСКА И ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА СТУДИЈА
ВО УСЛОВИ НА КВАДРАТНО-БРАНОВА ВОЛТАМЕТРИЈА“, ПРИЈАВЕНА НА
ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ ПРИ УНИВЕРЗИТЕТ
„ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“- ШТИП**

Со Одлука број 0206-133/3 од 31.1.2022 година, донесена на 50. седница на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 – Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, формирана е Комисија за оценка и одбрана на докторската дисертација со наслов „Примена на електродните механизми на површинско-активни системи во аналитика на лекови – теоретска и експериментална студија во услови на квадратно-бранова волтаметрија“, пријавена и изработена од м-р Милкица Јанева, асистент-докторанд, студент на трет циклус студии на студиската програма Аналитика на лекови, во следниов состав:

- проф. д-р Биљана Ѓорѓеска – претседател;
- проф. д-р Рубин Гулабоски – член и интерен ментор;
- проф. д-р Андрија Шмелцеровиќ – член и екстерен ментор;
- проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска – член;
- проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска – член.

Комисијата во наведениот состав го разгледа целокупно доставениот материјал и го поднесува следниов

ИЗВЕШТАЈ

1. Анализа на трудот

Докторската дисертација со наслов „Примена на електродните механизми на површинско-активни системи во аналитика на лекови – теоретска и експериментална студија во услови на квадратно-бранова волтаметрија“ претставува оригинален труд кој е пријавен и изработен од м-р Милкица Јанева, асистент-докторанд на Факултетот за медицински науки при Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип. Докторската дисертација е напишана на 161 страници, во А4 формат, со вкупно 52 фотографии/графикони, 3 шеми, 1 табела, 92 библиографски единици и дополнителен материјал каде што се прикажани оригиналните работни фајлови во MATHCAD на математичките модели за новите електродни механизми што за прв пат се обработени во оваа дисертација.

Содржината во трудот опфаќа 8 поглавја, организирани по следниов редослед: Вовед, Преглед на литература, Цели на истражувањето, Материјали и методи на работа, Резултати, Дискусија, Заклучоци и Користена литература. Готовиот докторски труд содржи и кратко резиме на македонски и на англиски јазик.

Во понатамошниот тек од овој извештај е презентирани краток осврт за секое од овие поглавја.

Во првиот **Воведен дел**, кандидатот асистент-докторанд м-р Милкица Јанева дава објаснување за електрохемиските техники и нивната широка примена која се заснова врз релативно евтината инструментација, големата осетливост во широк линеарен опсег на концентрации за неорганските и органските соединенија, брза анализа (во секунди), како и можностите за истовремено определување на неколку аналити. Во овој дел се опишува дека со анализа на хемиските интеракции помеѓу два лека, може да се добијат информации за стабилноста, ефикасноста и можните синергетски или токсични ефекти поврзани со комбинирањето на лековите што ги администрираме. Накратко е споменато и значењето на кинетиката и термодинамиката кај лек-лек интеракциите. На крајот е забележано дека волтаметријата како едноставна, брза и евтина алатка се користи за добивање увид во

механизмите, кинетиката и термодинамиката на интеракции на многу лекови, наоѓајќи примена во развојот на нови лекови и оптимизацијата на современата фармакотерапија. Токму на можните интеракции помеѓу лековите и механизмот по кој се одвиваат е насочено внимание при изведувањето на истражувањата за изработка на оваа докторска дисертација.

Во следниот дел од готовиот докторски труд, **Преглед од литература**, презентирани се литературни податоци за принципите и главните карактеристики на најважните волтаметриски техники, како и на техниката „квадратно-бранова волтаметрија“ која е главна работна техника користена во оваа дисертација. Во овој дел се дадени и дефиниции на некои релевантни поими во волтаметријата што ќе се среќаваат и елаборираат во дисертацијата. Во овој дел од дисертацијата кандидатката укажува на актуелноста на квадратно-брановата волтаметрија како брза, евтина и ефикасна алатка во испитувањето на својствата на лековите и на интеракциите на лековите.

Во потпоглавјето насловено како „Електродни механизми проучувани со квадратно-бранова волтаметрија (SWV) во рамките на дисертацијата“ даден е и релевантен преглед на литературата за површинските електродни механизми, кој потекнува од современи истражувања и научни трудови кои се публикувани во последните десетина години, во реномирани меѓународни научни списанија и трудови за кои се смета дека се базични иако потекнуваат од постар датум. Во овој дел посебно внимание е посветено кон елаборирање на едноставни објаснувања и дефиниции за електродните механизми што се обработени во дисертацијата, како и нивната поврзаност со интеракциите помеѓу лековите. Во овој поглед во дисертацијата се дадени и некои специфичности што ги разликуваат површинските електродни механизми од т.н. дифузиони механизми во услови на квадратно-бранова волтаметрија.

Покрај тоа, во ова поглавје се дефинирани карактеристичните физички параметри преку кои може да се карактеризираат и квантифицираат интеракциите помеѓу два дефинирани лекови. Во поглавјето е покажано дека хемиските промени во концентрациите на Ox и Red што ќе настанат во временската рамка на мерењето на струите во квадратно-брановата волтаметрија, обично предизвикуваат специфични карактеристики кај снимените волтамограми. Притоа е објаснето дека карактеристиките на кривите струја-потенцијал кај различните механизми што се обработени во дисертацијата зависат од временскиот интервал на мерење на струјата, од природата на хемиската реакција, како и од кинетичките и термодинамичките параметри поврзани со хемискиот чекор (т.е. со хемиските интеракции помеѓу два дефинирани лекови). Во таканаречените „површински“ механизми на електродата, кандидатката образложува дека за да се употребат електродните механизми елаборирани во дисертацијата треба да се има предвид дека редокс активните форми на лековите $Ox(ads)$ и $Red(ads)$ се силно адсорбирани (ads) на површината на работната електрода и не се случува трансфер на маса преку дифузија. Покрај тоа, се претпоставува и дека не постојат интеракции помеѓу адсорбираните видови.

Дадени се и прикази на квадратно-бранови волтамограми каде што се објаснети карактеристиките на електродните механизми на површински редокс активни системи во квадратно-бранова волтаметрија, а даден е и шематски визуелен приказ за овие системи.

Кандидатката врз основа на презентираниите научни резултати од проследената литература забележува за оправданоста на квадратно-бранова волтаметрија како техника, што е главна алатка што ќе ја користи во теоретските и експерименталните испитувања во интеракциите на лековите во докторската дисертација.

По обемниот литературен преглед кандидатката ги дефинира основните **цели на истражување** во овој труд.

- Главната цел на дисертацијата е да се постават теоретски основи за примена на резултатите од површински електродни механизми поврзани со хемиски реакции за студирање на интеракции помеѓу лекови, во услови на техниката квадратно-бранова волтаметрија.

За реализација на главната цел се поставени следниве специфични цели:

- теоретско моделирање на неколку едностепени и двостепени електродни механизми кај кои постојат и хемиски рамнотежи поврзани со продукција на почетниот реактант или со дополнителна реакција на крајниот електрохемиски генериран продукт од електродната реакција;

- теоретските резултати од сите електродни механизми обработени во дисертацијата ќе бидат употребени за развивање на дијагностички критериуми за препознавање на природата на даден механизам преку кој два лека стапуваат во хемиска интеракција, како и за развивање на теоретски методи што ќе бидат употребени за определување на релевантните кинетички и термодинамички параметри со кои ќе се квантифицираат интеракциите помеѓу два дефинирани лека;

- за механизмите што се првпат обработени и решени во оваа дисертација ќе се направат обиди да се конструираат работни криви што ќе можат да се искористат за определување на кинетички и термодинамички параметри што се релевантни за интеракциите помеѓу два дефинирани лека;

- во експерименталниот дел од дисертацијата ќе биде направен обид за потврдување на дел од теоретските резултати преку студирање на електрохемиската реакција на метиленско сино во присуство на серија од дефинирани лекови во услови на квадратно-бранова волтаметрија;

- ќе бидат направени обиди за примена на методологиите предложени од теоретските модели за определување на кинетичките и термодинамичките параметри на интеракциите помеѓу метиленско сино и дефинирани лекови или суплементи.

За реализација на детерминирани цели, во следното поглавје **Материјали и методи на работа**, асистент-докторанд магистер Милкица Јанева ги презентира теоретските методи и материјалите и методите за експерименталниот дел кои се искористени и детално го објаснува начинот на изведување на истражувањето.

Кандидатката ги дефинира условите при кои се решени теоретските модели, а ги објаснува и параметрите што се појавуваат во решенијата на математичките модели за електродните механизми елаборирани во дисертацијата. Покрај тоа, во теоретскиот дел се дадени објаснувања и дефиниции за сите инструментални, кинетички и термодинамички параметри што влијаат врз теоретски симулираните квадратно-бранови волтамограми.

Кандидатката го користи комерцијално достапниот пакет MATHCAD 14 и сите пресметки во теоретскиот дел на дисертацијата се вршени со оваа програма. Работните фајлови во програмата MATHCAD за обработените модели се дадени во Дополнителниот материјал во докторската дисертација. Останатите електродни механизми елаборирани во дисертацијата се симулирани врз база на модели за површински електродни реакции поврзани со хемиски рамнотежи во услови на квадратно-бранова волтаметрија, а се обработени врз основа на соодветните математички модели публикувани од страна на Рубин Гулабоски, Валентин Мирчески и Миливој Ловриќ. Пресметаните теоретски квадратно-бранови волтамограми симулирани во дисертацијата се функција на параметрите на применетиот потенцијал (квадратно-бранова амплитуда E_{sw} , потенцијален чекор dE , фреквенција f). Покрај тоа, теоретските квадратно-бранови волтамограми зависат и од коефициентот на пренос на електрони α , константата на рамнотежа на дефинирана хемиска реакција K_{eq} (во случај кога постои хемиска рамнотежа во соодветниот математички модел), како и од два бездимензионални кинетички параметри K и K_{chem} . Важно е да се напомене дека кога се студираат интеракции на два лека, вредноста на K_{chem} кореспондира на константата на брзината на интеракции помеѓу двата лека, додека K_{eq} кореспондира на константата на рамнотежа на хемиската реакција (или константа на стабилност помеѓу тие два лека, во случаи кога се формира стабилен или умерено стабилен комплекс).

Во експерименталниот дел на ова поглавје, кандидатката дава детали за употребената инструментација, типот на електродите и користените хемикалии во експериментите во кои се испитувани интеракциите помеѓу метиленско сино и дефинирани лекови. Покрај тоа, во експерименталниот дел од ова поглавје е образложен и експерименталниот протокол, т.е. опишан е начинот на кој треба да се студираат и евалуираат интеракциите помеѓу метиленско сино (моделна редокс активна компонента во експерименталниот дел на дисертацијата) и другите дефинирани лекови.

Во поглавјата **Резултати и Дискусија** кандидатката прави систематизација на добиените резултати и истите ги дискутира во однос на добиените сознанија по изведените експериментални студии.

Кандидатката детално ги објаснува резултатите од сите теоретски модели што се студирани и елаборирани во дисертацијата, како и предложените методи за мерење на кинетичките и термодинамичките параметри поврзани со интеракции помеѓу еден површински-активен лек и втор лек растворен во електрохемиската ќелија.

Во овој дел кандидатката ги елаборира главните теоретски резултати од следните електродни механизми:

- (а) едноставен површински електроден механизам (површински Е-механизам);
- (б) површинска електродна реакција поврзана со регенеративна иреверзибилна хемиска реакција (површински електрокаталитички регенеративен ЕС' механизам);
- (в) површински E_{rev} механизам, во кој за првпат се прикажани голем број специфични својства кај површински електроден механизам во кој електрохемиски генерираната форма на електродната реакција стапува во реверзибилна хемиска реакција.

Кандидатката укажува дека кај овој механизам, што често се среќава кај интеракциите помеѓу липофилни и хидрофилни лекови, преку феномените на зависностите на потенцијалот на пикот на нет-волтаметрискиот пик и преку струите на волтаметриските компоненти како функција од концентрацијата на вториот лек, може да се определат константите на брзина на интеракциите помеѓу два лекови, како и константата на рамнотежа на хемиски интеракции помеѓу дефинирани лекови.

Освен едностепени површински електродни механизми, кандидатката обработува во овој дел и неколку двостепени електродни механизми поврзани со хемиски реакции и тоа;

- (г) површински двостепен електроден механизам поврзан со иреверзибилна регенеративна хемиска реакција на крајниот електрохемиски генериран електроден продукт (површински регенеративен E_{ECS} механизам);
- (д) површински двостепен електроден механизам поврзан со хемиска рамнотежа на крајниот продукт од електродната реакција (површински $E_{ECS_{rev}}$ механизам, во кој како граничен модел е обработен и површински $E_{ECS_{irg}}$ механизам);
- (ѓ) површински двостепен електроден механизам поврзан со интермедиерна иреверзибилна хемиска реакција (површински E_{CirrE} механизам);
- (е) површински двостепен електроден механизам во кој почетната електрохемиски активна форма се креира со претходна реверзибилна хемиска реакција (површинска E_{revEE} механизам).

Како специфичност треба да се нагласи дека три од обработените модели на кандидатката во овој дел се за прв пат решени и публикувани од кандидатката и групата во која таа работи и тоа: површинскиот $E_{ECS_{irg}}$ механизам, површински $E_{ECS_{rev}}$ механизам, како и от E_{revEE} механизам. Се напоменува дека кај овие двостепени механизми, покрај методите за определување на кинетички и термодинамички параметри релевантни за интеракции на лекови, кандидатката претставува и начин за тоа како да препознае и дијагностицира дефиниран двостепен електроден механизам, во случаи кога и двата чекори од електрохемиската реакција се случуваат на ист потенцијал и се пресликани во еден волтаметриски пик во квадратно-бранова волтаметрија.

Покрај теоретските резултати, во поглавјето **Дискусија - Дискусија на експерименталните резултати**, кандидатката ги објаснува и механизмите за специфични интеракции помеѓу метиленско сино и некои од лековите. Притоа, кандидатката во овој дел дава и приказ на фитувани теоретски и експериментални волтамограми, што е основа за пресметување на кинетичките параметри на хемиски интеракции помеѓу метиленско сино и дадени лекови. Во ова поглавје, кандидатката дава и детален табеларен приказ во кој за случаите каде постојат интеракции помеѓу метиленско сино и дадениот лек, дадени се податоци за типот на механизмот на интеракции, како и за кинетичките параметри (константите на брзина на хемиска реакција). Кај некои интеракции што се од реверзибилна хемиска природа, дадени се податоци и за термодинамичките параметри (константите на хемиска рамнотежа). Најголемиот дел од експериментални параметри за интеракциите помеѓу метиленско сино и супстанциите претставени во табеларниот приказ за првпат се евалуирани во рамките на оваа дисертација.

Накрајот од ова поглавје кандидатката нагласува дека експерименталното и теоретското пресметување на кинетичките и термодинамичките параметри за интеракциите на два лека

зависи пред сè од точното дијагностицирање на механизмот според кој два лека стапуваат во хемиска интеракција. Точна евалуација на електродниот механизам овозможува правилна употреба на теоретските методи, како и на методите на фитување на теоретските и експерименталните волтамограми, со цел да се добие пристап до релевантните физички параметри за интеракциите помеѓу два лека. Притоа, важно е да се нагласи дека еден од лековите што стапуваат во интеракција треба да покажува електрохемиска активност во подрачјето на аплицирани потенцијали (да дава добро дефиниран волтаметриски процес) и истиот да е површински активен (т.е. да се апсорбира на површината од работната електрода).

Претпоследното поглавје се однесува на **Заклучоците**, односно во него се сумирани и презентирани сите главни карактеристики и забележани факти од истражувањето, согласно со поставените и детерминирани цели.

Врз основа на добиените резултати од теоретските и експерименталните истражувања и нивната дискусија, кандидатката сублимира сет од 12 релевантни заклучоци кои произлегуваат од примената на соодветните теоретски модели за електродните механизми, применети во интеракциите на метиленско сино и голем број на други лекови и суплументи.

Последното поглавје во докторскиот труд од асистент-докторанд м-р Милкица Јанева претставува **Користена литература**, каде што по азбучен редослед се цитирани 92 библиографски податоци, главно од понов датум, но и базични литературни единици преку кои се добиваат соодветни сознанија за истражувачката актуелност на оваа тематика, како и интересот за апликативните вредности, со кои ќе располага готовиот докторски труд.

2. Научен придонес

Придонесот во науката на оваа докторска дисертација се состои во тоа што за првпат е покажано како теоретските модели за површинско-активни редокс лекови може да се употребат за студирање и квантифицирање на интеракциите помеѓу липофилни редокс-активни лекови и други липофилни или хидрофилни лекови.

Добиените резултати од теоретските математички модели за површински редокс активни системи се користат со цел да се направи квалитативно и квантитативно студирање на интеракциите помеѓу дефинирани лекови во услови на квадратно-бранова волтаметрија.

Кандидатката преку добро дефинирани и меѓусебно поврзани и усогласени истражувања користи релевантни знаења од претходно воведени теоретски методи за симулирање на теоретските модели како воведени методи за експериментални студии со цел поврзување на добиените теоретски и експериментални резултати.

Земајќи ги предвид резултатите презентирани во дисертацијата, може да се забележи дека тие формираат широка база за развој на експериментални дијагностички критериуми за препознавање на механизмот на интеракции помеѓу два лекови. Покрај тоа, работните криви, дадените зависимости и предложените методи во теоретскиот дел од дисертацијата, овозможуваат практична примена на теоретските модели за квантификација на сет од кинетички и термодинамички физички параметри, што се релевантни за дефиниран тип на хемиски интеракции помеѓу два дефинирани лекови.

Добиените резултати од дисертацијата на кандидатката Милкица Јанева даваат силен придонес во апликацијата на ефтини, брзи и едноставни електрохемиски техники (како што е квадратно-брановата волтаметрија) во разни сегменти од фармацевтијата.

Докторската дисертација изработена под менторство на проф. д-р Рубин Гулабоски, редовен професор на Факултетот за медицински науки при Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, како интересен ментор, и проф. д-р Андрија Шмелцеровиќ, редовен професор на Медицински факултет, Универзитет во Ниш, Република Србија, како екстерен ментор, е напишана јасно, на научно и стручно ниво, теоретските и експерименталните анализи се добро систематизирани, добиените резултати се презентирани на ефективен, концизен и разбирлив начин.

Со резултатите презентирани и елаборирани во докторската дисертација се добиваат одговори на голем број практични прашања од областа на волтаметријата применета во објаснување на интеракциите на лекови, а добиените заклучоци се конкретни што претставува добра основа за понатамошни испитувања во оваа област.

3. Исполнетост на законските услови за одбрана на докторатот

Кандидатката м-р Милкица Јанева пред одбраната на докторската дисертација ги објавила следните рецензирани научни трудови:

1. **Milkica Janeva**, Pavlinka Kokoskarova, Rubin Gulaboski, “ Multistep Surface Electrode Mechanism Coupled with Preceding Chemical Reaction-Theoretical Analysis in Square-Wave Voltammetry” *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry* 12 (2020) 766-779 (Impact Factor = 1.48);
2. **Milkica Janeva**, Pavlinka Kokoskarova, Viktorija Maksimova, Rubin Gulaboski, Square-wave voltammetry of two-step surface redox mechanisms coupled with chemical reactions-a theoretical overview, *Electroanalysis* 31 (2019) 2488-2506 (Impact Factor = 3.223);
3. Pavlinka Kokoskarova, **Milkica Janeva**, Viktorija Maksimova, Rubin Gulaboski, “Protein-film Voltammetry of Two-step Electrode Enzymatic Reactions Coupled with an Irreversible Chemical Reaction of a Final Product-a Theoretical Study in Square-wave Voltammetry”, *Electroanalysis* 31 (2019) 1454-1464 (Impact Factor = 3.223);
4. Rubin Gulaboski, **Milkica Janeva**, Viktorija Maksimova, “New Aspects of Protein film Voltammetry of Redox Enzymes Coupled to Follow up Reversible Chemical Reaction in Square wave Voltammetry”, *Electroanalysis*, 31 (2019) 946-956 (Impact Factor = 3.223).

ЗАКЛУЧОК И ПРЕДЛОГ

Од евалуацијата и процената на доставениот докторски труд на кандидатката м-р Милкица Јанева, асистент-докторанд, запишана на трет циклус докторски студии, на студиската програма Аналитика на лекови, со наслов „Примена на електродните механизми на површинско-активни системи во аналитика на лекови – теоретска и експериментална студија во услови на квадратно-бранова волтаметрија” / на англиски јазик „Application of electrode mechanisms of surface active systems in drug analysis- theoretical and experimental study in square-wave voltammetry“, Комисијата донесе заклучок дека истиот претставува оригинален, самостоен, прецизно дефиниран, јасно оформен научен труд со систематски разработена проблематика и оригинални резултати во областа на електрохемијата.

Докторската дисертација врз основа на содржината, обемот и постигнатото ниво на квалитет на научна работа ги задоволува и исполнува условите потребни за изработка на докторска дисертација.

Врз основа на тоа, Комисијата има чест да му предложи на **Наставно-научен совет на докторски студии на Кампус 3 да ја прифати позитивната рецензија на докторската дисертација со наслов „Примена на електродните механизми на површинско-активни системи во аналитика на лекови – теоретска и експериментална студија во услови на квадратно-бранова волтаметрија” од кандидатката м-р Милкица Јанева и да се одобри јавна одбрана на истата.**

РЕЦЕНЗЕНТСКА КОМИСИЈА

Проф. д-р Биљана Ѓорѓеска, претседател, с.р.

Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип

Проф. д-р Рубин Гулабоски, ментор и член, с.р.

Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип

Проф. д-р Андрија Шмелцеровиќ, екстерен ментор и член, с.р. Медицински факултет,

Универзитет во Ниш, Република Србија

Проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска, член, с.р.

Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип

Проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска, член, с.р.

Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип