

**РЕЦЕНЗИЈА**  
**НА ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА СО НАСЛОВ „ТЕОРЕТСКА И**  
**ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА СТУДИЈА ЗА ПРИМЕНА НА ЕЛЕКТРОХЕМИСКИ**  
**РЕГЕНЕРАТИВНИ ЕЛЕКТРОДНИ МЕХАНИЗМИ ВО АНАЛИТИКАТА НА**  
**ЛЕКОВИ ВО УСЛОВИ НА ЦИКЛИЧНА СКАЛЕСТА ВОЛТАМЕТРИЈА“,**  
**ПРИЈАВЕНА НА ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ,**  
**УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“– ШТИП**

Со Одлука број 0206-616/3 од 6.10.2022 година, донесена на 61. 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 „Теоретска и експериментална студија за примена на електрохемиски регенеративни електродни механизми во аналитиката на лекови во услови на циклична скалеста волтаметрија“, пријавена и изработена од кандидатката м-р Софија Петковска, во состав:

- проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска – претседател;
- проф. д-р Рубин Гулабоски - член, ментор;
- проф. д-р Андрија Шмелцеровиќ – член, екстерен ментор;
- проф. д-р Елена Дракалска-Серсемова – член;
- проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска – член.

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

### ИЗВЕШТАЈ

#### Анализа на трудот

Докторската дисертација која е пријавена и изработена од кандидатката м-р Софија Петковска претставува оригинален труд кој согласно со програмата на третиот циклус на студии на студиската програма Аналитика на лекови е напишана на 139 страници, А4 формат, со вкупно 4 табели, 54 слики, 2 шеми, 85 литературни цитати и дополнителен материјал на 7 страници.

Дисертацијата ги опфаќа следниве поглавја: Краток извадок на македонски и англиски јазик, Листа на кратенки, Вовед и преглед на литература, Цели на истражувањето, Материјалите и методите на работа, Резултати, Дискусија, Заклучоци, Користена литература и Дополнителен материјал каде се прикажани оригиналните работни фајлови во MATHCAD на математичките модели за сите електродни механизми што се обработени во дисертацијата.

Во понатамошниот тек од овој извештај е даден краток осврт за секое поглавје од докторската дисертација.

Во **Воведот** се застапени сите литературни податоци потребни за реализацијата на оваа студија во која кандидатот дава приказ и објаснување на принципите и главните карактеристики на најважните волтаметриски техники, како и на техниката „циклична скалеста волтаметрија“, која е главна работна техника користена во оваа дисертација. Воведот содржи седум потпоглавја и тоа – Принципи на волтаметриските техники, Важни дефиниции кај волтаметриските техники, Инструментација во волтаметриските експерименти, Потенциостат, Главни карактеристики на цикличната волтаметрија, Дефинирање на критериумите за реверзибилност во цикличната волтаметрија и примена на цикличната волтаметрија за следење на механизмот на некои едностепени електродни реакции поврзани со хемиски реакции. Овие делови претставуваат една целина на воведот и даваат детален преглед и разграничување на теоретските постулати на докторската дисертација. Во првиот дел на воведот се објаснети принципите и главните карактеристики на најважните волтаметриски техники, како и на техниката „циклична скалеста волтаметрија“. Второто потпоглавје дава објаснувања и дефиниции релевантни за волтаметриските техники, додека во наредното трето се дадени основните принципи

на дизајнот и функцијата на волтаметриските комерцијални системи како составен дел на инструментација во волтаметриските експерименти. Во наредните потпоглавја се прикажани главните принципи на цикличната скалеста волтаметрија, како и нејзината улога во следењето на механизмот на некои едностепени електродни механизми поврзани со хемиски реакции. Дадени се критериуми за карактеристиките на цикличните волтамограми што се однесуваат на електродни механизми поврзани со дополнителна хемиска реакција и за електродни механизми поврзани со т.н. регенеративна хемиска реакција. Електродните механизми што се обработени во дисертацијата спаѓаат во групата на електрохемиски-регенеративни (или електрохемиски-каталитички) механизми, така што кандидатката во ова потпоглавје ги објаснува карактеристиките на волтаметриските криви кај овие електродни механизми и карактеристичните параметри што ги разликуваат површинските електродни механизми од т.н. дифузиони механизми во услови на циклична скалеста волтаметрија.

Во делот **Вовед** кандидатката укажува на актуелноста на цикличната волтаметрија како едноставна ефикасна алатка во испитувањето на својствата на лековите и на интеракциите на лековите.

Во второто поглавје, насловено како **Преглед на литература**, м-р Софија Петковска успева преку еден континуитет во презентирање на податоци од литературата да не воведо во електродните механизми студирани во дисертацијата во услов на волтаметриски техники. Оваа дисертација преку понови сознанија во литературата и потребите кои од тоа се наметнуваат ја прикажува важноста од испитуваните интеракции на лекови со циклична волтаметрија во последните 10-тина години. Најголемиот број трудови обработени во ова поглавје на дисертацијата се во форма на табеларен преглед, каде што се дадени и условите во кои се вршени волтаметриските испитувања за испитување на интеракциите на лекови, и определените кинетички параметри што се однесуваат на определените интеракции помеѓу два дефинирани лекови или помеѓу даден лек и ДНК.

По обемниот и детален литературен преглед следува делот во кој кандидатот прецизно ги дефинира и претставува **Целите на истражувањето**. Главен фокус на целите е насочен кон теоретско моделирање на неколку едностепени електродни регенеративни механизми кај кои постојат хемиски реакции поврзани со регенерација на почетниот реактант преку хемиска реакција на крајниот електрохемиски генериран продукт од електродната реакција со даден супстрат „Y” (т.е. лек 2). Притоа, кандидатката укажува дека теоретските резултати од студираниите електродни механизми обработени во дисертацијата ќе бидат употребени со цел да се разработат дијагностички критериуми за препознавање на природата на даден електрохемиски регенеративен механизам преку кој два лекови стапуваат во хемиска интеракција.

Кандидатката главен акцент става на четирите електродни механизми и тоа:

1. Регенеративен дифузионски електрохемиски (ЕС') механизам за студирање на хидрофилни лекови (кога и двата лекови што се студираат се добро растворливи во вода);
2. Регенеративен електрохемиски механизам за студирање на липофилни лекови што можат да стапат во иреверзибилни интеракции со хидрофилни или липофилни лекови (површински ЕС' механизам);
3. Модел за Регенеративна електрохемиска реакција на два хидрофилни лекови, каде што постои реверзибилна хемиска рамнотежа помеѓу хидрофилен лек „O“ и лекот „S“;
4. Модел за регенеративна електрохемиска реакција на липофилен електрохемиски активен лек (Ox) и друг хидрофилен лек „S“, каде што постои реверзибилна хемиска рамнотежа помеѓу лекот „O“ и лекот „S“.

Реализацијата на предвидените цели, од страна на кандидатката м-р Софија Петковска, детално е презентирани и објаснета во поглавјето **Материјали на истражувачка работа**, презентирајќи ја истовремено и методологијата на работењето, како и начинот на **обработка на добиените резултати**. Во ова поглавје кандидатката ги објаснува условите во кои се вршени експериментите, а преку дадените релевантни дефиниции понудено е решение на математичките модели за електродните механизми студирани

во дисертацијата. Во теоретскиот дел од ова поглавје се дадени објаснувања за сите параметри што се среќаваат во теоретските модели и кои влијаат врз карактеристиките на симулираните теоретски волтамограми. Во експерименталниот дел на ова поглавје се дадени објаснувања за инструментацијата, електродите и користените хемиски супстанции. Детално е образложен и експерименталниот приод за студирање, испитување и евалуација на интеракциите помеѓу моделните редокс активни компоненти (означени како „лек 1“) користени во експерименталниот дел на дисертацијата (2,5-дихидрокси-1,4-бензокинин, витамин B2 и калиум хексацијаноферат (II) со други дефинирани лекови (означени како „лек 2“). Овие модели за студираниите електродни механизми ќе бидат искористени за развивање на теоретски методи што ќе бидат употребени за определување на релевантните кинетички и термодинамички параметри со кои ќе се квантифицираат хемиските интеракции помеѓу два дефинирани лекови.

**Резултатите** добиени од м-р Софија Петковска како посебно поглавје во докторската дисертација ги прикажуваат сите теоретски модели обработени во дисертацијата, како и предложените методи за мерење на кинетичките и термодинамичките параметри поврзани со интеракции помеѓу даден редокс-активен лек и втор лек растворен во електрохемиската ќелија.

Преку изработката на оваа студија објаснети се и предложените методи за мерење на кинетичките и термодинамичките параметри поврзани со интеракции помеѓу даден водорастворлив или површински-активен лек и втор лек што е растворен во електрохемиската ќелија. Кандидатката на разбирлив начин ги елаборира главните теоретски резултати од следните електродни регенеративни механизми: (A) Регенеративен дифузишки електрохемиски (EC') механизам за студирање на хидрофилни лекови (и двата лека што се студираат се добро растворливи во вода); (B) Регенеративен електрохемиски механизам за студирање на липофилни лекови што можат да стапат во иреверзибилни интеракции со хидрофилни или липофилни лекови (површински EC' механизам); (B) модел за регенеративна електрохемиска реакција на два хидрофилни лека, каде што постои реверзибилна хемиска рамнотежа помеѓу хидрофилен лек „O“ и лекот „S“ и (Г) моделот за Регенеративна електрохемиска реакција на липофилен електрохемиски активен лек (Ox) и друг хидрофилен лек „S“, каде што постои реверзибилна хемиска рамнотежа помеѓу лекот „O“ и лекот „S“. Кандидатката укажува дека овие електродни механизми често се среќаваат кај интеракциите помеѓу хидрофилни или липофилни (редокс активни) лекови и други хидрофилни лекови. Притоа, кандидатката покажува дека преку феномените на зависностите на т.н. максимална гранична струја на т.н. *steady state* циклични волтамограми како функција од концентрацијата на вториот лек, може да се определат константите на брзина на интеракциите помеѓу двата студирани лекови. Кандидатката покажува дека граничната струја на *steady state* цикличните волтамограми е функција само од кинетиката на хемиските интеракции помеѓу „лек 1“ и „лек 2“ и овој параметар е независен од инструменталните параметри (брзина на промена на потенцијалот) и од другите кинетички параметри поврзани со електродната реакција (коэффициентот на пренос на електрони, коэффициентот на дифузија, коэффициентот на електронски трансфер. Ова е голема придобивка во експерименталните студии, бидејќи преку својствата на граничната струја на *steady state* циклични волтамограми (оваа состојба се добива при голема концентрација на супстратот „Y“ т.е. „лек 2“) може директно да се добие увид во брзината на хемиските интеракции на два дефинирани лекови. Треба да се нагласи дека два 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 механизмите (B) и (Г). Во теоретските модели за механизмите (B) и (Г), кандидатката претставува дијагностички критериуми за препознавање на овие електродни механизми, а разработува и теоретски методи за определување на константата на хемиска рамнотежа кај вакви системи. На визуелен начин, претставени се шематски сите електродни регенеративни механизми што се предмет на теоретска студија во дисертацијата.

Во поглавјето *Дискусија* кандидатката детално се осврнува на експерименталните резултати, на специфичните волтаметрички својства на употребените три моделни редокс активни компоненти (лек 1) и тоа: 2,5-дихидрокси-1,4 парабензокинон, витамин

B2 (рибофлавин) и калиум хексацијаноферат (II), како и специфичните интеракции помеѓу овие редокс активни системи и дефинирани лекови. Притоа, кандидатката дава и приказ на експериментални волтамограми, а претставува и едноставна метода што е основа за пресметување на кинетичките параметри на хемиски интеракции помеѓу редокс активните системи и дадени лекови. Од анализираните волтаметриски својства, кандидатката покажува како може од вредноста на граничната максимална струја од т.н. steady-state циклични волтамограми да се изврши определување на релевантни кинетички параметри што се важни за објаснување на интеракциите на даден редокс активен лек со друг дефиниран хидрофилен или липофилен лек. Кај електрохемиските регенеративни механизми поврзани со реверзибилна хемиска реакција, кандидатката дава работни криви од кои можат да се дијагностицираат овие механизми, како и да се определат термодинамички параметри поврзани со хемиската рамнотежа. Овие феномени за овие специфични регенеративни механизми се за прв пат публикувани во трудови каде што кандидатката е автор и претставуваат целосно нов концепт кај електродните регенеративни механизми. За сите испитувани системи кандидатката дава табеларен приказ на релевантните кинетички параметри за ситуациите каде што се утврдени интеракции помеѓу редокс активните моделни системи и дефиниран лек. Во ова поглавје, кандидатката дава и детален табеларен приказ на определените физички параметри од експериментите помеѓу редокс активните системи и дефинирани лекови. Резултатите што се добиени од теоретското студирање на елаборираните електродни регенеративни електрохемиски механизми може да послужат како основа за студирање на интеракциите на лекови со помош на циклична волтаметрија. На крајот од дисертацијата, кандидатката ги претставува и оригиналните работни верзии на MATCAD фајловите. Овие фајлови може да употребат од секој заинтересиран научник/истражувач за симулирање на електродните механизми обработени во дисертацијата. Резултатите од оваа дисертација можат да бидат од голема корист за сите истражувачи што работат во подрачјата на електрохемијата, аналитиката на лекови и дизајнот на лекови.

**Заклучоци** како посебно поглавје ги дава најважните образложенија за главните постигнувања во дисертацијата. Кандидатката сублимира сет од 18 релевантни заклучоци кои произлегуваат од примената на соодветните теоретски модели за електродните механизми, применети во интеракциите моделните редокс-активни компоненти и голем број на други лекови и суплементи.

Во поглавјето **Литература** кандидатката наведува 85 референци од понов датум кои се однесуваат на оваа проблематика. Овој податок уште еднаш ја потврдува актуелноста на проблемот и потребата од понатамошни истражувања.

### **Научен придонес**

Докторската дисертација на м-р Софија Петковска е логична целина во која се опфатени огромен број од важни теоретски и експериментални аспекти на студирање на интеракции на лекови со помош на циклична волтаметрија. Преку соодветна интерпретација на добиените теоретски резултати во услови на циклична волтаметрија, кандидатката м-р Софија Петковска дава и насоки за развивање на експериментални протоколи за студирање на интеракции помеѓу два лека кои стапуваат во електрохемиски регенеративен механизам.

Експерименталните методи предложени за определување на кинетиката на интеракции помеѓу два лека што стапуваат во електрохемиски регенеративен електроден механизам се едноставни и се базираат на следење на својствата на цикличните волтаметриски одговори на моделните редокс активни системи само како резултат на промена на концентрацијата на вториот лек чија концентрација ја зголемуваме во електрохемиската ќелија. При овие експерименти, важно е да се нагласи дека сите други инструментални параметри и концентрацијата на редокс активните лекови (лек I), треба да бидат константни.

Сите овие добиени резултати го потврдуваат научниот придонес на оваа докторска дисертација, односно дека првпат е покажано како преку студирање на теоретски модели за електрохемиски-регенеративни механизми на редокс лекови може да се добијат податоци за студирање и квантифицирање на интеракциите помеѓу хидрофилни и липофилни редокс-активни лекови и други липофилни или хидрофилни лекови.

### Апликативен придонес

Кандидатката конзистентно ги претставува и објаснува теоретските и експериментални резултати, при што во дисертацијата дава и едноставни методи и насоки за апликативна примена на теоретските методи во експерименталните испитувања на интеракциите на лекови со примена на циклична волтаметрија.

Сите резултати презентирани во дисертацијата формираат широка база за развој на експериментални дијагностички критериуми за препознавање на механизмите на регенеративни хемиски интеракции помеѓу два лекови. Големiot сет на симулирани циклични волтамограми, претставените работни криви и предложените методи во теоретскиот дел од дисертацијата овозможуваат практична примена на теоретските резултати за квантификација на дефиниран тип на хемиски интеракции од регенеративна природа помеѓу два дефинирани лекови. Резултатите од дисертацијата на кандидатката Софија Петковска даваат силен придонес во апликацијата на евтени, брзи и едноставни електрохемиски техники (како што е цикличната волтаметрија) во важни делови од фармацијата, како што е аналитиката на лекови. Со резултатите презентирани во докторската дисертација се добиваат одговори на голем број практични прашања од областа на волтаметријата применета во објаснување на интеракциите од регенеративна природа на дефинирани редокс лекови со други лекови или суплементи. Резултатите оваа дисертација можат да се гледаат како основа за понатамошни испитувања во оваа област.

### Начин на пишување и изнесување на материјата

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 по Фармацевтска хемија на Медицинскиот факултет, Оддел за фармација, на Универзитет во Ниш, како екстерен ментор, е напишана јасно, на научно и стручно ниво, испитувањата и анализите се добро систематизирани, добиените резултати се презентирани на ефективен, концизен и разбирлив начин. Добиените заклучоци се конкретни и сами по себе можат да бидат причина за понатамошни испитувања.

### Конзистентноста на деловите во рамките на целината

Кандидатката преку добро дефинирани и меѓусебно поврзани и усогласени истражувања, користење на релевантни знаења од претходно воведени, стандардизирани и валидирани методи дава една целина која ги исполнува сите услови да биде прифатена како докторска дисертација.

Кандидатката конзистентно ги претставува и објаснува теоретските и експериментални резултати, при што во дисертацијата дава и едноставни методи и насоки за примена на теоретските методи во експерименталните испитувања на интеракциите на лекови со примена на циклична волтаметрија.

### Исполнетост на законските услови за одбрана на докторатот

Кандидатката пред одбраната на докторската дисертација ги објави следниве рецензирани научни трудови:

1. **S. Petkovska**, R. Gulaboski, “Theoretical Analysis of a Surface Catalytic Mechanism Associated with Reversible Chemical Reaction Under Conditions of Cyclic Staircase Voltammetry”, *Electroanalysis* 32 (2020) 992-1004 (Impact Factor = 3.223)
2. **Sofija Petkovska**, Rubin Gulaboski, “Diffusional Electrochemical Catalytic (EC) Mechanism Featuring Chemical Reversibility of Regenerative Reaction-Theoretical Analysis in Cyclic Voltammetry”, *Croatica Chemica Acta* 92 (4) (2019) 495-502. (Impact Factor = 0.83)
3. Rubin Gulaboski, Pavlinka Kokoskarova, **Sofija Petkovska**, “Analysis of drug-drug interactions with cyclic voltammetry-an overview of relevant theoretical models and recent experimental achievements” *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry* 12 (2020) 345-364. (Impact Factor = 1.48)

4. Rubin Gulaboski, P. Kokoskarova, **S. Petkovska**, Time independent methodology to assess Michaelis Menten constant by exploring electrochemical-catalytic mechanism in protein-film cyclic staircase voltammetry, *Croat. Chem. Acta*, 91 (2018) 377-382. (Impact Factor = 0.83)
5. Gulaboski, R. **Petkovska, S.** A time-independent approach to evaluate the kinetics of enzyme-substrate reactions in cyclic staircase voltammetry, *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry* 10 (2018) 566-575; (Impact Factor = 1.48)

### ЗАКЛУЧОК И ПРЕДЛОГ

Комисијата за оценка и одбрана детално ја разгледа докторската дисертација со наслов „Теоретска и експериментална студија за примена на електрохемиски регенеративни електродни механизми во аналитиката на лекови во услови на циклична скалеста волтаметрија“ и донесе заклучок дека истата претставува оригинален, самостоен, прецизно дефиниран и јасно оформен научен труд со систематски разработена проблематика и оригинални научни истражувања и резултати.

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-научниот совет на докторски студии на Кампус 3** да ја прифати позитивната рецензија на докторската дисертација со наслов „Теоретска и експериментална студија за примена на електрохемиски регенеративни електродни механизми во аналитиката на лекови во услови на циклична скалеста волтаметрија“, пријавена и изработена од кандидатката м-р Софија Петковска и да одобри јавна одбрана на истата.

### РЕЦЕНЗЕНТСКА КОМИСИЈА

**Проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска,**

Факултет за медицински науки,

Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, претседател, с.р.

**Проф. д-р Рубин Гулабоски,**

Факултет за медицински науки,

Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, член, ментор, с.р.

**Проф. д-р Андрија Шмелцеровиќ,**

Медицински факултет, Оддел за фармација,

Универзитет во Ниш, член, екстерен ментор, с.р.

**Проф. д-р Елена Дракалска-Серсемова,**

Факултет за медицински науки,

Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, член, с.р.

**Проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска,**

Факултет за медицински науки,

Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, член, с.р.