

## РЕЦЕНЗИЈА

НА ДОКТОРСКАТА ДИСЕРТАЦИЈА ПОД НАСЛОВ „ЕВАЛУАЦИЈА  
НА АНТИОКСИДАТИВНИ И ЦИТОТОКСИЧНИ ОСОБИНИ НА  
КАПСАИЦИНОИДИ ЕКСТРАХИРАНИ ОД ЛУТИ ПИПЕРКИ КУЛТИВИРАНИ  
ВО РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА“ ИЗРАБОТЕНА ОД М-Р ВИКТОРИЈА  
МАКСИМОВА, ПРИЈАВЕНА НА ЗЕМЈОДЕЛСКИ ФАКУЛТЕТ, УНИВЕРЗИТЕТ  
„ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ ВО ШТИП

Со Одлука број 0206-702/3 од 12 септември 2016 година, донесена на 22. редовна седница на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 2 (биотехнички, техничко-технолошки и природно-математички науки) при Универзитетот „Гоце Делчев“ во Штип, одржана на 12 септември 2016 година, формирана е Комисија за оценка и одбрана на докторската дисертација под наслов *„Евалуација на антиоксидативни и цитотоксични особини на капсаициноиди екстрахирани од лутти пиперки култивирани во Република Македонија“* пријавена и изработена од кандидатката м-р Викторија Максимова, во состав:

- проф. д-р Рубин Гулабоски, претседател;
- проф. д-р Емилија Јаневик-Иваноска, член;
- проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска, член;
- проф. д-р Лилјана Колева-Гудева, член;
- проф. д-р Валентин Мирчески, член.

Комисијата во наведениот состав, по сеопфатното прегледување на докторската дисертацијата, го поднесува следниов

## ИЗВЕШТАЈ

Докторската дисертација под наслов *„Евалуација на антиоксидативни и цитотоксични особини на капсаициноиди екстрахирани од лутти пиперки култивирани во Република Македонија“* пријавена и изработена од кандидатката м-р Викторија Максимова, асистент-докторанд на Факултетот за медицински науки при Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, е напишана на 131 страници, на А4 формат, со вкупно 43 слики, 14 табели и 143 литературни цитати, а содржината опфаќа 7 поглавја, организирани по следниот редослед: **вовед, преглед на литературата, цели и предмет на истражувањето, материјал и методи на истражувачката работа, резултати, дискусија, заклучок и користена литература.**

Антиоксидацискиот капацитет на капсаициноиди и екстрактите од петнаесет различни генотипови од лутата пиперка, култивирана на поднебјето на Република Македонија, одредени преку волтаметриски и спектроскопски методи е главен предмет во истражувањата на оваа докторска дисертација. Најчесто застапени антиоксиданти во лутата пиперка се: витамин С, витамин Е, каротеноиди, кверцетин, лутеолин и капсаицин. Содржината на капсаицин во лутата пиперка е еден од главните параметри што е испитуван во ова истражување, бидејќи како резултат на присуството на капсаицин, пиперката може да биде искористена како во прехранбени така и во медицински цели.

Основна цел на оваа докторска дисертација е воспоставување на нов и едноставен метод, со што лесно и брзо може да се испита антиоксидацискиот капацитет на капсаициноиди, со користење на циклична и квадратно-бранова волтаметрија и примена на електрода од стаклест јаглерод (Glassy Carbon Electrode, GCE). Преку овие електрохемиски истражувања се опишува и електродниот механизам на редокс реакцијата на капсаициноиди во средина со рН вредност блиска до физиолошката. Дополнително, една од основните цели на оваа докторска дисертација, е да се испита цитотоксичноста на капсаициноиди и етанолните екстракти од

пиперка врз B104 неуробластома клетките. Неуробластома претставува екстракранијален тумор што често се јавува кај детската популација со степен на преживување до 5 години. Со оглед на тоа дека во механизмот одговорен за цитотоксичното дејство на капсаицин во неуробластома клетките се вклучени и слободните радикали, крајната цел на оваа студија е да се одреди каква е корелацијата помеѓу антиоксидациското и цитотоксичното дејство на капсаициноидот, како главна биоактивна компонента во комплексот од блиски и сродни капсаициноиди присутни во плодот од лутата пиперка.

Во **воведното поглавје** кандидатката дава краток осврт за таксономското потекло на пиперката и за нејзините морфолошки карактеристики. Опишани се основните биолошки и фармаколошки карактеристики на капсаициноидите, како специфични секундарни метаболити на растенијата од родот *Capsicum*, како и на капсаициноидот како главен претставник од групата на протоалкалоиди, капсаициноиди.

**Прегледот на литературата** за оваа докторска дисертација содржи голем број на домашни и странски автори, а овој преглед содржи и соодветен хронолошки приказ кој најпрво се однесува на хемиските и фармаколошките особини на капсаициноидот. Разгледувајќи ги првите научни трудови за откривањето на капсаициноидот од Misko et al. (1898), како и карактеризацијата на неговата структура и номенклатура Nelson, (1910), па сè до поновата литература во која се предложени најнови методи за негова екстракција и квантификација Pегucka и Materska, (2007) м-р Викторија Максимова дава целосен преглед на поважните објавени трудови кои се однесуваат проблематиката поврзана со евалуацијата на антиоксидациските и цитотоксичните ефекти на капсаициноидот. Литературните податоци за електрохемиски метод за одредување на вкупниот антиоксидациски потенцијал на екстрактот од пиперка се доста скромни. Мал е бројот на референции кои го покажуваат конкретниот ефект на капсаициноидот или екстрактите од пиперка врз неуробластома клетките. Токму затоа во оваа дисертација е испитан цитотоксичниот ефект на капсаициноидот, но истовремено и на екстрактот од лута пиперка врз клеточна линија од неуробластома, со што претставува прва научно истражувачка работа која е поврзана со проблематиката на евалуација на антиоксидацискиот и цитотоксичниот ефект на поважните капсаициноиди екстрахиран од лутите пиперки

Поглавјето **материјали и методи на истражувачката** работа содржи детален опис на растителниот и лабораториски материјал кој се користел во истражувањата, методите за екстракција на капсаициноиди од 15 различни по лутина генотипови на пиперка, како и опишување на сите користени методи во евалуацијата на антиоксидациските и цитотоксичните ефекти на испитуваните капсаициноиди и екстрактите од плодовите на растителниот материјал. Користени се две конвенционални методи, како начини за екстракција на капсаициноидите, и тоа мацерација со вакуум филтрација и Soxhlet екстракција. Квантитативното определување на капсаициноиди во направените екстракти од сите 15 генотипови на пиперка е одредено со методот на високопритисочна течна хроматографија (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC). Од методите за одредување на антиоксидацискиот капацитет користени се волтаметриските методи на циклична и квадратно-бранова волтаметрија. FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant Power, железо редуирачки антиоксидациски капацитетен) методот претставува *in vitro* тест за одредување на антиоксидациските својства кој е детално опишан и користен исто така во истражувањата на оваа докторската дисертација. Вијабилноста на клетките по третман со одредена испитувана супстанца може да се одредува со помош на повеќе *in vitro* методи. Во оваа студија вијабилноста на B104 неуробластома клетките по третман со капсаицин или екстракти од лута пиперка е одредувана со помош на MTT методот. За одредување на процентот на смрт на клетките односно појавата на апоптоза искористен е LDH методот.

Сите добиени резултати од истражувањето статистички се обработени со користење на статистички софтвер Graph Pad Prism, version 6.01. За обработка на податоците од морфолошките анализи на секој генотип одделно е применета статистичка анализа на варијанса за секое својство на испитуваните генотипови (One way ANOVA тест), а за резултатите од цитотоксичност на капсаициноидот во различни концентрации и различно времетраење на третман користен е Two-way ANOVA тестот. Добиената статистичка значајност кандидатката ја проценила со употреба на Dunnett's Multiple Comparisons тестот.

Следното поглавје ги опфаќа **результатите** добиени од експерименталните истражувања во рамките на оваа докторска дисертација и истите образложени се графички и табеларно во 7 поднаслови. Оваа поглавје воедно претставува и најобемниот содржински дел од докторската дисертација. Резултатите од морфолошките карактеристики на петнаесетте различни генотипови од видот *Capsicum annuum* L., покажуваат дека неколку генотипови значително се разликуваат од генотиповите на *куртовска капија* и *златен медал*, земени како благи пиперки (контрола) во истражувањата.

Од резултатите при анализа на етанолните екстракти добиени со мацерација со вакуум филтрација и со Soxhlet методата се гледа дека капсаицинонот е застапен со највисока концентрација во екстрактот добиен од генотипот фефрона и кај двата користени методи на екстракција. Конечните резултати што се однесуваат на концентрацијата на капсаицин, дихидрокапсаицин и нордихидрокапсаицин, изразени во  $\mu\text{g}$  капсаициноид / g сува маса со HPLC методот во етанолните екстракти добиени со двата користени типа на екстракција, прикажани се табеларно и графички. Понатаму, во поглавјето резултати се презентирани резултатите од циклична и квадратно-бранова волтамметрија со цел да се процени антиоксидациониот капацитет на капсаицинонот, како и на екстрактите од пиперка. Добиените резултати се прикажани со 19 циклични и квадратно-бранови волтаммограми. Карактеристичните нето (вкупни) квадратно-бранови волтаммограми на витамин Е, кверцетин и аскорбинска киселина (при еквимоларни концентрации,  $10 \mu\text{mol/L}$ ), снимени на GCE во пуферски раствор при  $\text{pH} = 7.0$ , се прикажани исто така во оваа поглавје. Овие резултати укажаа на значителен синергистички антиоксидациони ефект на главните биоактивни компоненти на пиперката (капсаицин, витамин Е, витамин С, кверцетин) кога се испитувани заедно во раствор со физиолошка  $\text{pH}$  вредност.

Резултати добиени од анализата на цитотоксичните особини на капсаицин и *Capsicum* екстрактите укажуваат дека капсаицинонот поседува цитотоксичен ефект само во повисоки концентрации ( $100$  и  $250 \mu\text{mol/L}$ ), додека пониските концентрации на капсаицин ( $0.5$ - $10 \mu\text{mol/L}$ ), не покажале сигнификантен цитотоксичен ефект врз неуробластома клетките. МТТ и LDH тестовите, што се однесуваат на цитотоксичните особини на екстрактите добиени од различни генотипови на пиперки, покажале дека екстрактите немаат цитотоксично дејство врз неуробластома клетките.

Во поглавјето **дискусија** сите добиени резултати м-р Викторија Максимова соодветно ги дискутира и ги поткрепува со компаративни анализи од референции кои ја обработуваат истата проблематика. Кандидатката јасно, концизно и децидно ги објаснува добиените резултати во 6 поднаслови, вклучувајќи го и соодветниот коментар и за статистичката сигнификантност од статистичката анализа на податоците.

Врз основа на добиените резултати и нивната правилна дискусија во поглавјето **заклучок**, кандидатката м-р Викторија Максимова извлекува 9 конкретни и концизни заклучоци. Тука сублимирани се најбитните сознанија добиени од севкупното истражување за антиоксидационите и цитотоксичните ефекти на истражуваните капсаициноиди и на етанолните екстракти од 15 различни генотипови на *Capsicum* sp. Заклучоците резултираат од правилниот избор и примената на соодветни методи на истражување, одлично познавање и обработување на истражуваната проблематика, а сето тоа е поткрепено со консултирање на обемна научна литература од елитни светски истражувачи.

Докторандката во делот за **користена литература** цитирала **143** референции и истите соодветно ги дискутирала и компарирала со резултатите од своите истражувања во текстот на поднесениот ракопис на докторската дисертација.

Докторска дисертација изработена од асистент-докторанд м-р Викторија Максимова, под менторство на проф. д-р Лилјана Колева-Гудева, редовен професор на Земјоделски факултет при Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, како интересен ментор, и проф. д-р Валентин Мирчески, редовен професор на Природно-математички факултет, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ - Скопје, како екстерен ментор, е успешно реализирана со голем придонес за науката. Со оваа докторска дисертација е развиен нов, едноставен и брз електрохемиски метод за одредување на вкупниот антиоксидациони потенцијал на екстрактот од пиперка, кој воедно може да послужи и за одредување на антиоксидациониот потенцијал на многу други растителни екстракти. Притоа е направена анализа на

антиоксидациониот потенцијал на капсаициноидот екстрахиран од лутите пиперки и за првпат е откриен неговиот синергистички антиоксидациони ефект врз останатите компоненти во екстрактот од лута пиперка. Овој синергистички ефект е поврзан со механизмот на цитотоксичност на капсаициноидот врз неуробластома клетките.

### ЗАКЛУЧОК И ПРЕДЛОГ

Комисијата за оценка и одбрана детално го разгледа поднесениот текст на докторската дисертација под наслов „*Евалуација на антиоксидативни и цитотоксични особини на капсаициноиди екстрахирани од лутти пиперки култивирани во Република Македонија*“, изработена од кандидатката м-р Викторија Максимова, асистент-докторанд на Факултетот за медицински науки при Универзитетот „Гоце Делчев“ во Штип, и донесува заклучок дека изработената докторска дисертација претставува оригинален, самостоен и комплексен научен труд.

Комисијата смета дека кандидатката во текот на истражувачкиот период успешно ги реализирала поставените цели на дисертацијата, односно извршила сеопфатни анализи за антиоксидациониот и цитотоксичниот ефект на капсаициноидите екстрахиран од лутти пиперки култивирани во Република Македонија. Користени се најсовремени и најосетливите методи во лабораториски анализи кои во целост ги задоволуваат принципите на научна работа. Сето тоа дава огромен научен придонес во областа на физиологијата на растенијата и пошироко во биотехничките науки.

Потврда за научната тежина на темата се прифатените и објавени трудови од дисертацијата во престижни научни списанија (*Journal of Electrochemical Science, imp. fact. 1,692; Revista Brasileira de Farmacognosia, imp. fact. 0,956; Hemijska industrija, fact. 0,437; IOSR Journal of Pharmacy* и други).

Во согласност со горенаведеното, Комисијата има чест да му предложи на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 2 да ја прифати позитивната рецензија на докторска дисертација со наслов „*Евалуација на антиоксидативни и цитотоксични особини на капсаициноиди екстрахирани од лутти пиперки култивирани во Република Македонија*“, изработена од асистент-докторанд м-р Викторија Максимова, и да одобри јавна одбрана на истата.

### РЕЦЕНЗЕНТСКА КОМИСИЈА

Проф. д-р Рубин Гулабоски, редовен професор, с.р.  
Проф. д-р Емилија Јаневиќ-Иваноска, редовен професор, с.р.  
Проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска, вонреден професор, с.р.  
Проф. д-р Лилјана Колева-Гудева, редовен професор, с.р.  
Проф. д-р Валентин Мирчески, редовен професор, с.р.