

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. доктор Пламен Тодоров Пейков,

на дисертация за придобиване на образователната и научна степен “Доктор”, научна специалност “Фармацевтична химия”

Тема: „ Синтез и изследване на пирол-съдържащи хидразони, като принос в разработването на нови туберкулостатици”

Докторант: инж. Мая Боянова Георгиева

Катедра “Органичен синтез и горива”

Химикотехнологичен и метарлугичен университет, София

Научен ръководител: проф. дхн инж. Атанас Бижев

Инж. Георгиева е родена през 1977 г. През 1996 г. завършва Образцов Техникум по Химическа Промисленост и Биотехнологии „ проф. д-р Асен Златаров”, София, а през 2001 г., Химикотехнологичен и Металоргичен Университет, София, разработвайки дипломна работа в Хамбург, Германия и придобива степента Магистър Биотехнолог. Трудовият си стаж започва във фармацевтичната индустрия като офис мениджър. През 2002 г. печели конкурс за асистент по аналитична химия във Фармацевтичен факултет, МУ-София и преподава до 2008 г., когато става редовен докторант в Химикотехнологичен и Металоргичен Университет, София.

Научните интереси на инж. Георгиева са в областта на синтеза и анализа на вещества с потенциална биологична активност.

Дисертационният труд съдържа 148 страници, включващи 19 таблици, 38 схеми, 58 фигури, от които 5 страници въведение и цел, 44 страници литературен преглед, 2 страници цели и задачи, 62 страници специална част, 3 страници изводи, 7 страници експериментална част, както и 6 страници спектрални приложения на изомерите. Отделно Приложение I с ИЧ спектри и Приложение II с ^1H -ЯМР спектри. Цитирани са 236 литературни източника, от които 76 от последните 5 години.

Дисертационната темата е актуална, предвид значимостта на противотуберкулозните лекарства. Относително високата заболяемост и смъртност от туберкулоза е съществен международен здравен проблем. По данни на СЗО, за 2009 г. са регистрирани над девет милиона нови случаи на болни от това заболяване. Литературният обзор аргументира целта и задачите на работата, които са поставени ясно – синтез на нови неописани в литературата пирол-съдържащи хидразони, оптимизиране на литературни синтетични методи, изолиране, доказване структури, изследване за стабилност на получените съединения и скрининг за тяхната инхибиторна активност спрямо *Mycobacterium tuberculosis*, остра токсичност, оценка на лекарствено подобие с „Правилото на Липински“, извличане на зависимости структура/активност, изолиране и доказване на геометрични изомери. Три са основните центъра в дисертацията: синтез, доказване структурата и охарактеризиране на получените съединения (I), фармакологични изследвания (II) и прогноза за фармакокинетичните свойства, структура/биологична активност и изомерия при някои хидразони (III).

Подходът при синтез на нови съединения с потенциална противотуберкуозна активност е изключително ефективен с подбор на заместителите в базовата структура, използвайки корелация структура/активност и определяне на общ фармакофор на база предишни научни експерименти. Въз основа на литературния преглед и традициите в катедра “Органичен синтез и горива” при ХТМУ, София е избрана реакцията на Paal-Knorr. Първоначално се получават алфа-бромирани ацетофенони, C-алкилиране на 1,3-дикарбонилни съединения и циклизация с аминокиселини. Синтезирани са 30 нови, неописани в литературата съединения, от които 2 нови хидразида и техни 28 хидразона, съдържащи пиролов хетероцикл. Добивите са високи между 46-89 %, структурата и чистотата е потвърдена чрез спектрални методи (ИЧ- и ¹H-ЯМР-спектри), ТСХ и елементен анализ за C, H и N.

Химичният процес е оптимизиран и реакционното време е установено с ТСХ.

Изследванията за стабилност на синтезираните съединения показват, че те са стабилни при съхранение между една и две години при стайна температура, достъп на въздух и светлина. Много важно за интерпретацията на резултатите от фармакологичните изследвания е тяхната стабилност при физиологични условия, рН 7,4 (кръвна плазма), рН 1,2 (стомах), рН 8,5-9,0 (тънки черва) и температура 37⁰С. Прилагането на спектрален анализ, снемането на UV/VIS спектри е много удачен подход за такова изследване. Доказана е хидролиза при киселинно и алкално рН, около 30, съответно около 20%. При 7,4 рН, не се регистрират хидролизни промени. Това изследване е ориентировъчно, защото е направено на едно, наречено моделно съединение. В неговата структура има две основно атакуеми групи: естерна и амидна и не става ясно как протича хидролизата, още повече, че тя не е 100%. Ако беше използван ТСХ метод и свидетели, би могло да се направят някои предположения за хидролизните процеси на съединенията. Не може да се правят никакви задълбочени изводи за резорбция, защото трябва да има фармакокинетични изследвания концентрация/време *in vivo*.

Съвсем логично, новосинтезираните съединения са фармакологично тествани срещу *Mycobacterium tuberculosis*, щам H₃₇Rv. Това е първичен скрининг, Ниво 1. Два са параметрите на изследването, възможност за инхибиране 50% или 90% на туберкулозния щам. Едно от съединенията **7o** е перспективно за следващи тествания и потенциално за оптимизиране на структурата от фармакологичен аспект. Изследванията *in vitro* за противотуберкуозна активност са осъществени от две Американски организации и като перспективни са четири хидразона, в това число, пак **7o**. Изследваните съединения са до 10 пъти по-слабо токсични в сравнение с контролата, Isoniazid. Удачно е използван Up-down метод за интра-перитонеална и перорална токсичност. Резултатите от тези фармакологични изследвания потвърждават синтетичния избор, който е

правилен за получаване на хидразони на пирила. Тук възникват два въпроса: 1. Какво се разбира под термина „туберкулостатици“; 2. Защо контролата е Isoniazid? Трябва да се има предвид, че това лекарство е с бактерициден ефект. Съединенията имат индекс на резорбция средно 50%, а три от тях, над 60%, показател който е благоприятен за фармакологични изследвания.

Принос е използването на „Правило 5 на Липински“ за прогноза на фармакокинетичното поведение на хидразоните. Резултатите са добри с оглед на бъдещ подбор и оптимизация на техните структури с цел противотуберкуозна активност. На база тези изследвания е много рано да се използва термина „противотуберкуозни препарати“. Обосновката за включване на електроноакцепторен заместител на р-място в ароматното ядро е без обяснение, а само е регистрирана засилена фармакологична активност. При получените QSAR модели също не е дадена интерпретация за наличната активност. От друга страна, тези изследвания дават сериозни насоки за бъдещи синтези на съединения с противотуберкуозна активност. Съществен принос е приложената ТСХ хроматографска система за препаративна хроматография за разделяне и изолиране на два изомера на хидразон **7o**. Тяхната структура е коректно доказана с ИЧ и ¹H-ЯМР спектри. Тяхното бъдещо фармакологично изследване ще е много важно и за гоемия въпрос, връзка структура/активност. Независимо от малкия брой съединения, са изведени корелации структура-активност, които нямат количествена стойност, а показват насоката при бъдещи синтетични разработки.

От научните публикации (общо три), свързани с дисертационния труд, една е в международно списание с импакт-фактор (Lett Drug Des Discov.) 0,805 и две статии в български списания, като едното от тях „Фармация“ се реферира и е с международна редакционна колегия.

По отношение тези показатели, инж. Георгиева покрива наукометричните показатели, залегнали в Правилника на ХТМУ за образователната и научна степен „Доктор“.

Участия на научни форуми: общо 8 на брой, 7 от които в страната и едно участие в Германия, съответно един доклад и 7 постерни участия.

Авторефератът напълно покрива дисертационния труд.

Основните недостатъци на работата могат да се концентрират до: при синтетичните схеми в литературния обзор липсват данни за видовете заместители, ако не конкретно, те биха могли да бъдат описани обобщено, необходима е по-сериозна аргументация при избора на реакцията на Pall-Knorr, трябваше да бъдат посочени по-подробно условията при които протичат разгледаните в обзора реакции, острата токсичност е определена само на 12 съединения и липсва аргументация за този подбор, както и за използвания Isoniazid за контрола при противотуберкулозната активност, като структурен аналог или механизъм на действие. Тези забележки в никакъв случай не поставят под съмнение извършеното положително от докторантката.

Заклучение

Това е една класическа разработка в областта на органичния синтез, получаване на нови, неописани в литературата съединения, оптимизиране на синтетичния процес, изолиране с високи добиви, доказване на структури и охарактеризирането им, и фармакологични изследвания. Че работата е значима, показателно е ангажирането на различни научни звена, като Катедра "Фармакология и токсикология" при Фармацевтичен факултет, МУ-София и Американската организация за борба с туберкулозата. Характерът на научните приноси е обогатяване на съществуващите знания и потенциалното приложение на тези научни постижения в практиката. Фармакологичните резултати доказват правилно избрания подход: молекулен органичен синтез – свойства на съединенията-фармакологични изследвания - връзка структура/активност – молекулен дизайн. Синтезирани са 30 нови, неописани в литературата

съединения с високи добиви, като структурата им не буди съмнение, тъй като са използвани съвременни спектрални изследвания.

Предлагам да се присъди образователната и научна степен "Доктор" на инж. Мая Георгиева.

23.06.11.

Рецензент:

(доц. Пейков)

