

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Емилия Димитрова Найденова, катедра „Органична химия“, ХТМУ

ОТНОСНО: Дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“ от инж. Стефан Марчев Димов

По научна специалност 7.3 Фармация (Фармацевтична химия)

Тема на дисертационния труд: **„Дизайн, структурни изследвания и биологична активност на хетероарил съдържащи тиенопиримидинони“**

Научни ръководители: доц. д-р Анелия Маврова
проф. дхн Владимир Божинов

Представеният ми за рецензия дисертационен труд е посветен на актуален проблем с научно и приложно значение. През последните години се синтезират, охарактеризират и изследват огромен брой съединения с цел потенциално приложение в медицината и фармацията. Основните изисквания към тях са да проявяват висока активност и същевременно да са ниско токсични и без странични ефекти. В съгласие с това интерес представляват хетероциклите, съдържащи пиримидиново ядро в структурата си. Настоящият дисертационен труд е посветен на синтез и изследване на съединения, с наличие на два фармакофора в структурата си, което би позволило по-добро взаимодействие с активните центрове на биологичната мишена.

1. Кратки биографични данни

Докторант Стефан Марчев Димов е завършил висшето си образование в Химикотехнологичен и металургичен университет, София, като бакалавър по Фин органичен синтез през 2012 г. и като магистър по същата специалност през 2013 г. с отличен успех. От 01.03. 2014 г. той е зачислен, като редовен докторант по Фармацевтична химия в катедра Органичен синтез и горива на ХТМУ под прякото ръководство на доц. д-р Анелия Маврова.

Участвал е в разработването на три проекти към Научноизследователския сектор на ХТМУ, които са свързани с темата на дисертационния му труд. Научните интереси на докторант Димов са главно в областта на синтеза, изолирането, пречистването и изследването на нови органични молекули с потенциал за приложение в различни области на науката.

2. Преглед на дисертационния труд и анализ на резултатите

Изключително приятно впечатление прави прецизното написване и оформяне на дисертационния труд. Дисертацията е много добре структурирана, като включва три глави, изводи, приноси, цитирана литература и приложения. Съдържа и списък на използваните съкращения, което значително улеснява четенето. Изложена е на 159 страници, от които 43 стр. литературен обзор, 33 стр. експериментална част, 48 стр. резултати и обсъждане. Илюстрирана е с 67 фигури, 52 схеми и 8 таблици. Използваната литература съдържа 360 източника, като значителна част от тях са от последните години. След което в рамките на 170 страници са представени приложения на ИЧ и ¹H-ЯМР спектри, абсорбционни спектри и физикохимични характеристики на синтезираните съединения. Показателите на известните в литературата съединения са показали пълно съвпадение, а литературните източници са цитирани в края на приложението.

Отделните части в собствените изследвания са представени в хронологична последователност, а изводите коректно отразяват получените резултати.

Проведена е огромна по обем научно изследователска работа, която е описана съгласно изискванията.

2.1 Актуалност на тематиката.

Изследванията в областта на дизайн и синтез на нови биологично активни съединения с потенциал за приложение в медицината са традиционно актуални. Постоянно се търсят нови класове лекарствени средства с по висока активност, с понижени странични ефекти и токсичност. В научните среди все по-широко се прилага подход, при който се използва комбинация от два различни активни фрагмента в една молекула. В литературата са описани синтезите и изследванията

на голям брой производни на тиенопиримидините и бензимидазолите. Те притежават широк спектър на биологична активност, който включва антибактериална, антивирусна, антинеопластична, антихистаминова, антиконвулсивна, антихелмитна и антидепресивна активност, което ги прави подходящи за дизайн и получаване на нови лекарствени средства.

Всичко това определя целта на настоящия дисертационен труд, която е синтез и изследване биологичната активност, както и установяване връзката структура-активност на тиенопиримидини, съдържащи разнообразни хетероциклични фармакофори като 1*H*-бензимидазол, фталимид и 1,3,4-тиадиазол.

2.2 Познаване на проблема.

Направена е солидна библиографска справка и е обработена голяма по обем информация. Представен е доста подробен литературен обзор, който е написан компетентно и показва, че докторант Стефан Димов добре познава състоянието на проблема.

Описани са свойствата на пиримидините и тиенопиримидините. По много добър сравнителен подход са разгледани съществуващите методи за синтез на тиено[2,3-*d*]пиримидини в зависимост от вида на изходния материал.

Поради сходството между физикохимичните свойства на бензена и тιοфена замаяната с последния често води до получаването на съединения с по-добри фармакодинамични, фармакокинетични и токсикологични свойства. Тиенопиримидините са разгледани, като биоизостери на хиназолините, които притежават разнообразна биологична активност и като структурни аналози на хетероцикличните пурини и тиазолопиримидините.

Разгледана е антибактериалната и противогъбична активност, както и антипаразитната в това число и противомаларийна активност на редица синтезирани тиенопиримидини, както и механизма им на действие. Показан е потенциала на тиенопиримидините при търсенето на нови нестероидни противовъзпалителни и аналгетични средства. Подробно са разгледани и производни, които проявяват антинеопластична активност чрез инхибиторното си действие върху различни рецептори и ензими. Обърнато е внимание и на

докладваните в литературата *in vivo* и *in vitro* изследвани за антиоксидантна активност и връзката с противотуморното действие.

Задълбочен анализ е направен и на бензимидазолите, техните свойства, методите за синтез, възможностите за модификация и разнообразната им биологична активност.

Направеното обобщение на литературния обзор позволява на докторант Стефан Димов да формулира точно и ясно целта на дисертацията и удачно да подбере задачите за нейното реализиране.

2.3 Методика на изследването.

В експерименталната част са разгледани методичните подходи, използвани за постигане на поставените цели. Всички избрани методи позволяват постигане на поставените цели и получаване на адекватен отговор на задачите, поставени за решаване в дисертационния труд. Многото и разнообразни методи за синтез и анализ на получените продукти усвоени от докторанта показва, че той се е изградил като много добър изследовател в областта на органичния синтез.

3. Характеристика и оценка на приносите в дисертационния труд

Докторантът е насочил изследванията си към един от важните за фармацевтичната химия класове съединения, а именно: синтеза на нови 2-, 3- и 4-заместени тиено[2,3-*d*]пиримидинови производни на основата на етил 2-аминотиофен-3-карбоксилати и 2-аминотиофен-3-карбонитрили, като изходни продукти. Предвиден е фармакологичен скрининг на представители от всяка серия синтезирани съединения, за установяване на тяхната биологична активност. Опити на докторанта натрупан в предишни негови изследвания го е насочил да бъдат извършени и тестове за твърдофазна фотостабилност на избрани представители от новосинтезираните вещества.

Безспорно, изследванията му до голяма степен са предопределени от опита и постиженията на научните му ръководители, които имат сериозни успехи в изследваната област.

Основните приноси на разработения труд са в синтеза на нови съединения с потенциална биологична активност и приложение за създаването на нови лекарствени средства.

Синтезирани и прецизно охарактеризирани със съвременни спектрални методи са 100 съединения, от които 60 нови неописани в литературата. Това е впечатляващ брой за една дисертационна работа, като се има в предвид, че това са хетероциклични съединения със сложна структура. Синтезираните съединения са обособени в следните групи:

2-субституирани тиено[2,3-*d*]пиримидини и техните 2-аминотиофенови прекурсори;

тиено[2,3-*d*]пиримидини, съдържащи фталимидов фрагмент;

производни на 3-етил- тиено[2,3-*d*]пиримидин-4-она;

тиено[2,3-*d*]пиримидин-4-они , съдържащи бензимидазол;

производни на 1*H*-бензимидазол-2-она и 1*H*-бензимидазол-2-тиона;

бис-субституирани бензимидазоли, съдържащи тиено[2,3-*d*]пиримидини и техните нитрилни прекурсори

Разработени са подходящи методи за синтез, изолиране и пречистване на изброените групи съединения. Определени са техните химични и физични свийства.

За реакцията на циклокондензация между 2-аминотиофени с ароматни и алифатни нитрили, чрез продухване със сух газ хлороводород, е създаден ефективен време спестяващ метод, посредством свързване на реакторите последователно, като е установено, че това неводи до понижаване на добивите.

Чрез проведен спектрофотометричен анализ е установено, че слабата реакционна способност на 4-амино-тиенопиримидините се дължи на наличието на комплексообразуване с оцетната киселина и *амино-иминна* тавтомерия, което възпрепятства процеса на ацилиране.

Установени са реакционните условия за протичане на *N,N*- присъединяване по *Aza-Michael* на акрилонитрил към бензимидазол-2-они и бензимидазол-тиони.

Проведени са фармакологични изследвания за антихелминтна активност срещу тъкълния хелминт *Trichinella spiralis*. Данните от проведения *in vitro* паразитологичен анализ са показали, че някои от новосинтезираните тиено[2,3-

d]пиримидин-4-они проявяват значително по-висока активност в сравнение с референтните лекарствени средства. Това дава основание за по-нататъшни изследвания за антитрихинелозна активност *in vivo*.

Синтезираните тиенопиримидини са изследвани *in vitro* за антинеопластична активност спрямо серия от човешки клетъчни линии и е установено, че проявяват висока цитотоксичност и селективност спрямо тестваните клетъчни линии. Връзката между структура и биологична активност показва, че наличието на 1,3,4-тиадиазолов и глицинов остатък в молекулата на тиено[2,3-d]пиримидина води до значително понижаване на цитотоксичността спрямо нормални човешки диплоидни *Lep3* клетки, като се запазва високата цитотоксичност срещу раковите.

За по-голяма пълнота на изследванията и изясняване на механизма на свързване и действие са проведени молекулни изчисления и *docking* проучване на производни на 3-етил-тиено[2,3-d]пиримидин-4-они.

Проведеният *in vitro* скрининг за антиоксидантна активност на 5,6,7,8-тетрахидробензо[b]тиено[2,3-d]пиримидин-4-амините показва, че те не проявяват инхибиращ ксантиноксидазата ефект, въпреки структурното подобие между тиенопиримидините и клинично тествания инхибитор на ксантиноксидазата *allopurinol*.

Изследвана е фотостабилността на серия от синтезираните съединения и е разработена аналитична методика за провеждането на твърдофазен тест за фотостабилност.

4. Оценка на съответствието между автореферата и дисертационния труд

Авторефератът, който е 67 страници, съответства на съдържанието на дисертацията и представлява съкратен вариант на нейната същност. Отразява напълно и достоверно получените резултати, както и техния анализ. Темата съответства на научната специалност.

5. Мнение за публикациите на дисертанта по темата на дисертационния труд

Без съмнение проведените синтези и получените резултати са лично дело на докторанта. Резултатите са отразени в 1 научна публикация, в специализираното

научно списание *European Journal of Medicinal Chemistry* с импакт фактор - **3.902**.
Върху публикацията са забелязани 2 цитата. Представена е и 1 публикация в сборник от *International Scientific and Practical Conference "WORLD SCIENCE"*.

Части от резултатите са докладвани на 3 научни постерни сесии за студенти, докторанти и млади учени на ХТМУ. През 2016 година на XIII НАУЧНА ПОСТЕРНА СЕСИЯ докторант Стефан Димов е получил награда за отлично представяне. Има участие и в 1 международна научна конференция, проведена в Дубай.

Публикациите отразяват напълно получените в дисертационния труд резултати.

Инж. С. Димов има още 3 научни публикации извън дисертационния труд публикувани в международни издания с много висок импакт фактор. Всичко това доказва високото ниво и актуалността на проведените от него изследвания.

6. Лични впечатления Познавам бегло докторант Димов, но впечатленията ми от дисертационния му труд са отлични. Той е един добре образован и компетентен млад специалист в областта на органичния синтез. Високо оценявам проведените от него научни изследвания и му пожелавам все така ентузиазирано и всеотдайно да работи в избраната от него научна област.

7. Критични бележки и въпроси.

Нямам критични забележки по-същество. Как докторанта вижда бъдещето на синтезираните от него съединения? Какви допълнителни изследвания трябва да се извършат, за да може показалите най-висока активност молекули да станат реални кандидати за нови лекарствени средства?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

В заключение считам, че представеният ми за рецензия дисертационен труд напълно отговаря по обем, научно-приложни приноси и публикации в научната литература на изискванията за дисертационен труд и на Правилника на ХТМУ за

придобиване на научни степени. Дисертационният труд на **инж. Стефан Димов** е посветен на актуален проблем с научно и приложно значение.

Разработени са методи за синтез, изолиране и пречистване на биологично активни молекули, включващи в структурата си комбинация от два различни активни фрагмента с цел повишаване на активността и намаляване на сртаничните ефекти. Подборът на производни на тиенопиримидините и бензимидазолите е удачен, тъй като те притежават широк спектър на биологична активност. Доказателство за това е получаването на съединения с активност надвишаваща тази на клинично тествани лекарствени препарати.

При изпълнението на задачите докторанта показва много добро познаване на литературата по проблема, на методичните подходи и специализираните тестове за изследване на биологичното действие. Всички синтезирани съединения са охарактеризирани със съвременни методи, а резултатите са представени коректно според възприетите изисквания. Ясно се виждат възможностите му за самостоятелна научно-изследователска работа и компетентността при представяне и интерпретиране на получените резултати.

Въз основа на изложеното по-горе и като изхождам преди всичко от приносите на дисертационния труд и получените резултати, препоръчвам на почитаемите членове на Научното жури да гласуват положително за присъждането на образователната и научна степен „Доктор” по научна специалност 7.2 Фармация (Фатмацевтична химия) на **инж. Стефан Димов**.

29.05. 2017 г.

.....

.....
Проф.д-р инж.Емилия Д. Найденова