

РЕЦЕНЗИЯ

От проф. д-р Георги Цветанов Момеков

*Катедра по фармакология, фармакотерапия и токсикология,
Фармацевтичен факултет при Медицински университет-София*

*член на научно жури, съгласно заповед НД-20-08/25.01.2016 на
Ректора на ХТМУ, по процедура за придобиване на образователна и
научна степен „Доктор“*

Представената рецензия е относно дисертационния труд *„Синтез и изследване на хепатотоксичност и антиоксидантна активност на N,N'-дизаместени бензимидазол-2-тиони“* на инж. Неда Орлинова Анастасова, редовен докторант към катедра „Органичен синтез и горива“ при Химикотехнологичния и металургичен университет- София, в Професионално направление: 7.3. Фармация (Фармацевтична химия).

1. Кратки биографични данни и характеристика на научните интереси на кандидатата.

Докторантът инж. Неда Орлинова Анастасова е родена на 7.10.1988 г. в гр. София и завършва средното си образование в 18 СОУ „Уилям Гладстон“, специализирано в изучаването на източни езици и култури, с профил по китайски език, след което е приета като студент в ХТМУ-София.

В периода април 2011 - юли 2011 е стипендиант на програмата ERASMUS в лаборатория по Химична технология на текстила в Каталонския

политехнически институт в Барселона, Испания, с грант за изготвяне на дипломна работа. През същата година получава две бакалавърски степени по фин органичен синтез и инженерна екология в ХТМУ - София. През следващата година Неда Анастасова придобива и магистърска степен по фин органичен синтез, като изготвя дипломната си теза в лаборатория „Структурен органичен анализ“, Институт по органична химия, с център по фитохимия (ИОХЦФ), БАН.

През периода 2012-2013 година е назначена на длъжност химик в ИОХЦФ, БАН, а от 2016 г. заема академичната длъжност асистент, в същия институт. Неда Анастасова е зачислена като редовен докторант, по професионално направление 7.3 Фармация (Фармацевтична химия), към катедра Органичен синтез и горива през 2013. Научни ръководители на дисертацията са доц. д-р Анелия Маврова (ХТМУ) и проф. д-рн Владимир Божинов (ХТМУ). Видно от представените документи Неда Анастасова е полиглот, с владеене на английски, испански и китайски език.

Докторантът инж. Неда Анастасова е положила изискуемите докторантски изпити по научната специалност “Фармацевтична химия“ както и по английски език с оценка отличен - 6.

В рамките на периода на разработване на дисертационния труд тя посети специализиран курс по „Фармакология и токсикология“ и положи съответния изпит, с отличен успех, в катедрата по Фармакология, фармакотерапия и токсикология на Фармацевтичен факултет при Медицински университет-София.

Дисертацията е дискутирана на разширен катедрен съвет на катедра „Органичен синтез и горива“ при Химикотехнологичен и металургичен университет на 16.12.2017 г. и е насочена към процедура за защита.

2. Преглед на дисертационния труд и анализ на резултатите.

Дисертационният труд е написан на 136 машинописни страници, като отговаря на традиционно възприетата у нас структура и съдържа следните раздели: въведение, литературен обзор, цели и задачи на дисертационната работа, резултати и обсъждане, експериментална част, изводи и приноси. Трудът е онагледен с 35 фигури, 34 схеми и 8 таблици. Библиографията обхваща 158 цитирани източника.

Обзорът отразява значението на бензимидазолите като фармакофор и лидерна структура в областта на Фармацевтичната химия, както и методичните проблеми, асоциирани с получаването им. Дискутирани са и химията и биологията на свободно-радикаловите процеси и оксидативния стрес. Методичните и експерименталните раздели са развити образцово. Приложени са синтетични схеми, по които са синтезирани неописани досега N,N'-дизаместени бензимидазол-2-тиони, като за получаването на част от тях е разработен и апробиран нов метод за синтез, който е базиран на *aza*-присъединяване по Michael. Синтезирани са общо 45 съединения, 39 от които са нови, неописани в литературата.

Фармакологичната студия, която е интегрален елемент от дисертационния труд, е проведена в колаборация с доц. Магдалена Кондева-Бурдина от Лабораторията по лекарствен метаболизъм и лекарствена токсичност, Катедра по фармакология, фармакотерапия и токсикология, Фармацевтичен факултет (Медицински университет-София). Проучването е ценно с това, че *ex vivo/in vitro* процедурите позволяват експеримент при максимално запазване на функционалния интегритет на хепатоцитите и минимален разход на експериментални животни, в съответствие с тенденциите за ограничаване на животинските експерименти. Проучванията са проведени при съблюдаване на

националната и институционална нормативна уредба за етика в експерименталните проучвания и са одобрени от Българската агенция за безопасност на храните.

От проведеното пилотно проучване върху изолирани хепатоцити на плъх се вижда, че са получени перспективни биологично активни съединения, проявяващи висока антиоксидантна и хепатопротективна активност, което дава основание незаместените в 5-та позиция на ароматното ядро производни на N,N'-дизаместените бензимидазол-2-тиони да се разглеждат като перспективни водещи структури за лекарствен дизайн на съединения с хепатопротективен ефект по механизмите на антиоксидантно действие и инхибиране на липидната пероксидация. Тези студии могат да се разглеждат като отправна точка за по-нататъшно разработване на сходни съединения с потенциално приложение като инхибитори на оксидативния стрес при чернодробни заболявания.

Чрез помощта на теоретично изчислени енталпии за пренос на водороден атом и йонизационни потенциали е изяснен вероятният механизъм на антиоксидантно действие в полярна и неполярна среда. Чрез ИЧ спектри е проследено превръщането на 1,3-бис-[3-(3-метокси-3-оксопропил)-5-нитро-2,3-дихидро-1H-бензимидазол-2-тион до анион-радикал., като е извършено пълно вибрационно отнасяне на ивиците в експерименталните спектри към съответните нормални трептения с помощта на IEFPCM-B3LYP/6-311++G** изчисления. Установено е много добро съответствие между експерименталните и теоретично предсказаните честоти. Комбинираното използване на инфрачервена спектроскопия в електрохимична клетка и теоретични пресматания представя удачен подход за изследване на реакционни интермедиати, свързани с проявата на хепатотоксичност при нитро производните.

3. Оценка на съответствието между автореферата и дисертационния труд.

Представеният автореферат добре отразява структурата на дисертационния труд и отлично резюмира експерименталните данни, изводите и приносите. На тази основа считам, че авторефератът съответства на съдържанието на дисертационния труд.

4. Характеристика и оценка на приносите в дисертационния труд.

Дисертационният труд на инж. Неда Анастасова третира една авангардна научна област – проучване на нови бензимидазолови производни като потенциални хепатопротектори с антиоксидантен механизъм на действие. Той е продължение на дългогодишният проучвания на бензимидазоли в изследователската група към първичното звено в ХТМУ.

Бензимидазолите стоят в основата на няколко важни класове терапевтични средства, в т.ч. инхибиторите на протонната помпа, някои ангиотензинови рецепторни антагонисти, цитостатици, антихелминтни средства, противовирусни лекарства. Разработването на бензимидазолови хепатопротектори с антиоксидантен механизъм е интересна стратегия, тъй като независимо от комплексната етиология на чернодроните заболявания, тъканните увреди при инфекциозните, токсичните и автоимунните процеси често са медирирани от генериране на свободни радикали и отключване на оксидативен/нитрозативен стрес.

С оглед разрешаване на задачите, формулирани в дисертационния труд е разработен и апробиран синтетичен алгоритъм за получаване на 1,3-дисубституирани бензимидазол-2-тиони, на основата на *aza*-присъединяване по Michael. В резултат на експерименталната работа е създадена мини-библиотека

от 45 бензимидазолови производни, като 39 от тях са нови, неописани съединения, оригинален принос на докторанта. Съединенията са изолирани и подложени на детайлно охарактеризиране, посредством набор съвременни спектрални методи, сред които ИЧ спектроскопия, ¹H-ЯМР, ¹³C-ЯМР, COSY и др.

Предвид търсената биологична активност и респективно сфера на приложение на разработените аналози е проведено пилотно проучване на инхибиращия им ефект, по отношение на първични култивирани плъщи хепатоцити, с оглед идентифициране на перспективни лидерни структури, отличаващи се с минимален токсикологичен потенциал върху прицелната клетъчна популация. Изследван е хепатопротективния потенциал на най-малко токсичните съединения при модел на *tert*-бутилхидропероксид – индуциран оксидативен стрес, с определяне на клетъчна жизнестойност, интегритет на клетъчните мембрани, нива на редуциран глутатион и малонов диалдехид. Получените аналози могат да се разглеждат като перспективни лидерни структури с изразена хепатопротективна активност, опосредствена от модулиране на оксидативния стрес, редокс-ензимните системи и глутатиона.

Според мен формулираните от докторанта изводи добре отразяват получените експериментални данни. Приемам дефинираните приноси.

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

Основната част от студиите, обект на дисертационния труд, са дисеминирани в литературата, както следва: 2 реални публикации, 1 орален доклад и 6 постерни доклада, представени на национални и международни научни конференции, в т.ч. две в чужбина. Публикациите по дисертационния труд са в реферирани авторитетни международни списания - *Bioorganic & Medicinal*

Chemistry (JCR-Thomson Reuters импакт фактор 2.92) и *Arabian Journal of Chemistry* (JCR-Thomson Reuters импакт фактор 3.63), издавани от Elsevier. При проведената справка са установени 6 цитирания на първата публикация. Наукометричните данни напълно покриват формалните критерии за придобиване на образователната и научна степен „доктор“.

6. Критични бележки и коментари.

В хода на запознаването ми с дисертационния труд, както и на предварителното дискутиране в първичното звено, направих някои терминологични бележки, относно спецификата на фармако-токсикологичната студия. Със задоволство забелязвам, че всичките ми забележки са отразени във финалния труд.

С оглед бъдещо, по-задълбочено, проучване на фармакодинамичните характеристики на тестваната серия би било интересно да се проследи взаимодействието на новосинтезираните аналози с метални йони и със системата на цитохром-P450, тъй като редица имидазоли и бензимидазоли се свързват с желязния йон в активния център на тези ензими и ги инхибират.

7. Лични впечатления за дисертанта.

Имах удоволствието да преподавам на Неда Анастасова в рамките на специализирания курс по Фармакология и токсикология. Това наред с дискусиите на дисертацията и нейното представяне на процедурата по обсъждане в първичното звено ми дават основание високо да оценя нейните компетенции като млад учен и бързото и навлизане в специфичната терминология и експерименталните методи, използвани в областта на фармакологията и токсикологията.

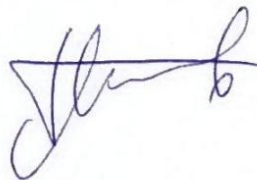
8. Заключение.

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд на инж. Неда Анастасова е една завършена студия с оригинални приноси както в областта на органичния синтез, така и в областта на рационалния дизайн и разработване на бензимидазоли като принципно нов клас хепатопротектори с антиоксидантен механизъм на действие. Приемам научните приноси в представената докторска теза и считам, че те съответстват на професионално направление 7.3. Фармация (Фармацевтична химия).

Внушителната серия от съединения, както и тяхното детайлно охарактеризиране и фармакологична оценка, несъмнено са личен принос на докторанта. Извършената изследователска работа, дисертационния труд в неговата цялост и дефинираните приноси, както и дисеминирането на резултатите като научни съобщения и реални публикации, напълно покриват националната и институционалната рамка от критерии за придобиване на научната и образователна степен „Доктор“. На тази основа, оценката ми за дисертационния труд е положителна и мога убедено да препоръчам на почитаемите членове на научното жури да подкрепят с вота си присъждането на образователната и научна степен „Доктор“ на инж. Неда Орлинова Анастасова.

София, 27.02.2017 г.

Поглис:



/проф. д-р Георги Момеков/