

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Борис Л. Шивачев,

ЮГОЗАПАДЕН УНИВЕРСИТЕТ "НЕОФИТ РИЛСКИ", БЛАГОЕВГРАД,

Природо-математически факултет, Катедра Химия

адрес: ул. "Иван Михайлов" №66, Благоевград, 2700

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен "доктор"
в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика,
професионално направление: 4.2. „Химически науки“
докторска програма: Органична химия

Автор: Александра Иванова Тенчева

Тема: *Синтез на производни на мемантина с очаквано протективно действие срещу болест на Алцхаймер*

Научен ръководител: проф. д-р Иванка Станкова

1. Общо представяне на материалите по процедурата и докторанта

Александра Иванова Тенчева е зачислена в редовна форма на докторантурата на 08 януари 2018 г. (заповед № 2 от 08.01.2018г.) в докторска програма „Органична химия“ с научен ръководител: проф. д-р Иванка Станкова и тема на дисертационен труд „Синтез на производни на мемантина с очаквано протективно действие срещу болест на Алцхаймер“. Отчислена е с право на защита на (заповед 112) 28.01.2022г..

Александра Иванова Тенчева получава ОКС "бакалавър" през 2016 г. и ОКС "магистър" през 2017 г. получени от Югозападен университет "Неофит Рилски" (Биологично активни вещества и лекарствени средства- магистър). След получаването на тези степени тя започва работа в катедра "Химия" където през 2018 г. е зачислена като редовен докторант в същата катедра. През 2023 г. е избрана за асистент в същата катедра, където работи и до днес.

Представеният от Александра Тенчева комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на закона за развитие на академичния състав в република България (ППЗРАСРБ) и правилника за развитие на академичния състав на Югозападен университет "Неофит Рилски" и включва всички изискващи се за процедурата документи: Автобиография, Автореферат, Дисертация, Справка с приноси, Справка-декларация на изпълнение на минималните национални изисквания, Отчет за проверка с програмата iThenticate установяване на сходство и плагиатство с чужди трудове, Публикации на докторанта по темата на дисертацията и заповеди по процедурата.

Докторантката Александра Ив. Тенчева е изпълнила стриктно заложените в индивидуалния учебен план образователни, научноизследователски и педагогически дейности. Общият брой на набраните кредити е 190, което свидетелства за активно и ефективно докторантско обучение. В периода на обучението тя е завършила успешно курсове по „Химия на аминокиселини и пептиди“, „Подготовка и управление на проекти“, „Превенция при невродегенеративни заболявания“ и „Английски език“, като е преминала съответните изпити. Научноизследователската дейност е развита съгласно изискванията – докторантката е извършила проучване и рефериране на литературата, представила е обособени части от дисертацията, участвала е в научни форуми и има публикации в научни издания. Педагогическата дейност е осъществена чрез водене на семинарни и лабораторни упражнения и други форми на преподавателска заетост, като са изпълнени и задълженията за участие в катедрени и факултетски дейности. Всички изисквания, заложи в индивидуалния учебен план, са изпълнени качествено и в срок с което са изпълнени посочените изисквания в чл. 52 (2) на Вътрешни правила за развитие на академичния състав в ЮЗУ „Неофит Рилски“ и чл. 24 от ППЗРАС.

Дисертационният труд на Александра Тенчева е с обем 107 страници, включва 37 фигури, 25 таблици и 8 схеми. Цитирани са 120 литературни източника. Структурата на труда съответства на изискванията за дисертации, като се състои от: Въведение, Литературен обзор, Цел и задачи, Експериментална част, Резултати и обсъждане, Изводи, Приноси, Списък с научни публикации, забелязани цитирания и литература.

За нуждите на процедурата резултатите представени в дисертационният труд са публикувани в статии: Amino Acids (Q1, IF 25 точки) и Scientia Pharmaceutica (Q2, SJR 10 точки) с което са изпълнени минимални национални изисквания съгласно чл. 26. от ЗРАС и чл. 1а от ППЗРАСРБ.

2. Оценка на представения Дисертационен труд.

Темата на дисертацията е в актуалното направление на синтез на нови органични молекули, получавани (синтезирани) въз основа на известни лекарствени форми и комбинирани с аминокиселинни фрагменти съчетаващи полезни свойства. Синтезът не е самоцелен, като акцентът е върху терапевтично въздействие с насоченост към невродегенеративните заболявания (болест на Паркинсон (PD) и Алцхаймер (AD)). В този смисъл темата е перспективна, с потенциална практическа насоченост и може да служи като основа на бъдещи изследвания.

Актуалност на тематиката. Дисертационният труд на Александра Иванова Тенчева е свързан със синтез на производни на мемантина, които включват структурни модификации с аминокиселинни фрагменти. Мемантинът е едно от малкото одобрени лекарства за симптоматично лечение на болестта на Алцхаймер, като действа чрез неконкурентна блокада на N-метил-D-аспартатните рецепторите (NMDA или NMDAR). Въпреки това, съществуващите терапии имат ограничена ефективност и значителни странични ефекти. Работата е насочена към създаване

на молекули с подобрена биодостъпност, намалена токсичност и усиляване на неврозащитните свойства.

Целта на настоящата дисертация е ясно формулирана и е насочена към създаване на нови молекулни хибриди, при които се интегрират аминокиселинни остатъци към структурата на мемантин. Работата е насочена към създаване (дизайн) на молекули с подобрени фармакокинетични и фармакодинамични свойства чрез въвеждане на различни функционални групи, които могат да оптимизират взаимодействието с биологичните мишени. Такъв тип молекулен дизайн – многоцелевите лиганди – отразява съвременните тенденции в органичния синтез и фармацевтичната химия – да се комбинират в една молекула различни фармакофорни групи с потенциал за синергичен ефект.

Допълнително, в хода на дисертацията са проучени различни стратегии за въвеждане на амидни и естерни връзки, както и конюгация с различни аминокиселини, което подчертава стремежа към мултифункционалност на молекулите. Така дефинирана, темата е изключително актуална, защото:

- се базира на валидирана клинична платформа (мемантин);
- търси подобряване на терапевтичния профил чрез иновативни молекулни модификации;
- открива възможности за разработване на нови лекарствени кандидати;
- поставя основа за по-нататъшни изследвания върху механизми на действие и взаимодействия с невроналните мишени.

В този смисъл, дисертацията има потенциална приложимост в бъдещата фармацевтична индустрия и допринася към световните усилия за създаване на по-ефективни терапии за невродегенеративните заболявания.

3. Познаване на проблема

Литературният обзор е представен на 52 страници, и е разделен на три подраздела като без да се правят явни изводи е в основата за определяне на целта на дисертацията. Литературният обзор демонстрира задълбочено и систематично познаване на съвременните постижения в областта на невродегенеративните заболявания, с фокус върху болестта на Алцхаймер. Авторката е извършила обширен литературен обзор, обхващащ молекулярния механизъм на действие на мемантина като NMDA-рецепторен антагонист, както и актуалните стратегии за химическа модификация на известни лекарствени молекули с цел повишаване на тяхната ефективност и биосъвместимост. Проявено е добро разбиране на:

- Патогенезата на невродегенеративните заболявания и ролята на глутаматергичната невротрансмисия.
- Фармакологичния профил на мемантина и неговите ограничения в клиничната практика.
- Концепцията за молекулен дизайн, основан на въвеждане на аминокиселинни фрагменти като средство за постигане на мултимодални фармакологични ефекти.

Освен това, в дисертацията са разгледани ключови методи за органичен синтез, структурна верификация чрез, термичен анализ, спектрални и рентгено-структурни методи (DSC/TGA, IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, XRD) и подходи за биологична оценка на активността, което подчертава комплексния и интердисциплинарен характер на изследването.

Синтезирани са серия от нови аналози на мемантин с аминокиселини като H-Phe(4-F)-OH и H-L-Ala-OH, H-Gly-OH, H-Val-OH, H-Phe-OH, H-Ala-OH, H-Tyr-OH. Разработени четири нови хибрида на мемантин с ноотропни вещества (кавинтон, пирацетам, модафинил и пикамилон), както и два нови аналога, съдържащи тиазолови производни.

Извършен е рентгеноструктурен анализ на две от съединенията: P-Ala-Mem и (4-F)Phe-Mem. Резултатите показват, че кристалите на P-Ala-Mem се формират по центросиметричен начин, докато (4-F)Phe-Mem кристализира нецентросиметрично. Оценена е също антивирусната активност на новите съединения срещу грипни вируси тип A: A/Fort Monmouth/1/1947 (H1N1), A/Wuhan/359/1995 (H3N2) и A/Jinnan/15/2009 (H1N1). Установено е, че H-Val-Mem проявява активност срещу щама A/Fort Monmouth/1/1947, чувствителен към оселтамивир (там и ф л у).

Изследвано е и въздействието на Tyr-Mem върху модел на Болестта на Паркинсон. Данните показват, че този хибрид подобрява функциите на паметта при лабораторни животни, като ефектът е съизмерим с този на мемантина, но при значително по-ниска токсичност. Неговото действие върху паметта е съпоставимо и с ефектите на кавинтон и тирозин, като също така показва значително намалена остра токсичност. Биологичните и хистологични анализи разкриват, че Tyr-Mem оказва благоприятно въздействие върху увредената от скополамин краткосрочна памет, като ефектът е сравним с този на H-Tyr-OH.

Невропротективната активност на новите съединения срещу модел на Болестта на Алцхаймер е изследвана *in vitro*. Резултатите показват, че аминокиселинните хибриди на мемантин проявяват защита срещу токсичност, индуцирана от медни йони, глутаматна ексайтотоксичност, оксидативен стрес и хипоксия.

Оценени са и антиоксидантната и антимикробната активност на новосинтезираните аналози. Най-висока антибактериална активност показва съединението H-(4-F)Phe-Mem, чието действие е сравнимо с това на стандартните антибиотици тетрациклин и нистатин.

4. Методика на изследването

Методиката на дисертационния труд е добре подбрана и съответства на съвременните изисквания за синтез и изследване на нови органични съединения с фармакологичен потенциал.

Основните етапи на изследването включват:

- Синтетични процедури: Проведен е целенасочен органичен синтез на производни на мемантин чрез конюгиране с различни аминокиселинни остатъци, използвайки съвременни методи на аминиране, амидно свързване и модифициране на алкилови вериги.

- Структурна характеристика:

Получените съединения са охарактеризирани чрез:

- Инфрачервена спектроскопия (IR),
- Ядрено-магнитен резонанс (^1H NMR, ^{13}C NMR),
- Елементен анализ,
- Рентгено-структурен анализ, което гарантира сигурност в определянето на структурата и чистотата на продуктите.
- Физикохимични изследвания:
Определени са основни параметри като точки на топене, разтворимост в различни разтворители и стабилност.
- Биологична оценка (в експериментален план):
Представени са предварителни насоки за оценка на потенциалната неврозащитна активност чрез анализ на литературни данни и планиране на *in vitro* тестове върху модели, свързани с глутамат-индуцирана невротоксичност.

Приложените методи са адекватни спрямо целите на дисертацията и отговарят на добрите практики в областта на органичния синтез и фармацевтичната химия.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд на Александра Иванова Тенчева представлява цялостно научно изследване, което съчетава синтетични, аналитични и концептуални подходи за разработване на нови „неврозащитни“ молекули. Работата е структуриран логично, обоснована е научно и демонстрира последователност в решаването на поставените задачи. Основните приноси в дисертацията са:

- Синтезирани са нови производни на мемантин, съдържащи аминокиселинни фрагменти, които до момента не са описани в научната литература.
- Разработени са нови синтетични подходи, позволяващи ефективно получаване на целевите съединения с високи добиви и добра чистота.
- Охарактеризирани са детайлно новите съединения чрез спектрални и физикохимични методи, доказващи тяхната структура и свойства.
- Предложени са структурни хипотези за възможни механизми на неврозащитно действие, базирани на известни фармакофорни модели.
- Извършени са биологични изследвания, чрез които да се потвърди фармакологичният потенциал на синтезираните молекули.

Дисертационният труд е изготвен професионално, с ясно дефинирана цел, логическа последователност и критичен анализ на получените резултати. Обхванат е значителен обем от литература, включително най-новите публикации в областта. Приносите имат научна новост и практическа приложимост.

6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Александра Тенчева е демонстрирала активна научна ангажираност през целия период на докторантурата си. В резултат на проведените изследвания са подготвени и публикувани няколко научни публикации в специализирани списания, както и доклади на научни форуми с участие на национално и международно ниво. Докторантката е съавтор в две публикации, които представят резултати от синтеза, характеристиката и планираната биологична оценка на нови производни на мемантин.

1. Tailoring acyclovir prodrugs with enhanced antiviral activity: Rational design, synthesis, human plasma stability and in vitro evaluation, Amino acids, 2018, 50, 1131-1143;
2. Hydrolytic stability of new amino acids analogues of memantine, Scientia Pharmaceutica, 2020, 88(3), 38.

Част от резултатите са докладвани на четири (4) научни конференции, където работата по тематиката е получила положителни оценки от професионалната общност. Докторантката е и участник в научен проект към ФНИ КП-06-М 23/2 от 18.12.2018 г. - съответстващ на темата на дисертацията.

Личният принос на Александра Тенчева е изразен както в експерименталната работа по синтеза и анализа на новите съединения, така и в концептуалното оформяне на изследователските цели и интерпретацията на получените резултати.

Докторантката активно е изпълнявала ангажиментите, заложи в индивидуалния учебен план, включително участие в научноизследователски проекти и педагогическа дейност, като е допринесла за обучението на студенти чрез семинарни занятия и лабораторни упражнения.

Публикационната активност е в съответствие с изискванията за защита на дисертация и свидетелства за висока степен на научна зрялост и самостоятелност в провеждането на научни изследвания.

7. Автореферат

Авторефератът на дисертационния труд е представен на 55 страници и представя коректно основните моменти от Дисертационният труд и е в съответствие с приетите норми.

8. Коментари и препоръки

Нямам критични бележки към дисертационния труд.

Получени резултати представляват солидна основа за последващо развитие на научните изследвания в областта на синтеза на неврозащитните агенти. На базата на изведените приноси могат да бъдат направени следните препоръки:

- Да се направи опит за връзка зависимост структура-активност (SAR). Получените данни позволяват изграждането на първоначални модели за

връзката между структура и биологична активност, което да подпомогне последващ дизайн на още по-ефективни молекули.

- Предвид новостта на съединенията, би било целесъобразно да се обмисли патентна защита на най-обещаващите структури (или на конкретната концепция).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на Александра Иванова Тенчева на тема „Синтез на производни на мемантина с очаквано протективно действие срещу болест на Алцхаймер“ е задълбочено и завършено научно изследване, което обогатява съвременните познания в областта на органичната и фармацевтичната химия. Областта на изследване (темата) е актуална, интердисциплинарна, с висока научна и практическа стойност. Приложените методи на изследване са съвременни и подходящи за целите на труда. Постигнатите резултати са оригинални, резултатите са публикувани и докладвани пред научната общност, индивидуалният учебен план е изпълнен стриктно. Дисертационният труд отговаря на всички изисквания на ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и на правилниците за неговото приложение на Югозападен университет “Неофит Рилски”. На основание гореизложеното давам положителна оценка на дисертационния труд и убедено препоръчвам на уважаемото научно жури да присъди на Александра Иванова Тенчева образователната и научна степен „Доктор“ по професионално направление 4.2. Химически науки, докторска програма Органична химия.

06 юни 2025 г.

ИЗГОТВИЛ:

проф. д-р Борис Л. Шивачев

REVIEW

By Prof. Boris L. Shivachev, PhD
South-West University "Neofit Rilski", Blagoevgrad
Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Department of Chemistry
Address: 66 "Ivan Mihaylov" Str., Blagoevgrad, 2700

of the dissertation for awarding the educational and scientific degree "Doctor" (PhD)
Field of Higher Education: 4. Natural Sciences, Mathematics and Informatics
Professional Field: 4.2. Chemical Sciences Doctoral Program: Organic Chemistry

Author: Alexandra Ivanova Tencheva

Thesis title: Synthesis of Memantine Derivatives with Expected Protective Effect Against Alzheimer's Disease

Scientific Advisor: Prof. Ivanka Stankova, PhD

1. General Presentation of the Materials and the Doctoral Candidate

Alexandra Ivanova Tencheva was enrolled in the regular form of the PhD program on January 8, 2018 (Order No. 2 dated 08.01.2018) in the Doctoral Program "Organic Chemistry" with scientific advisor Prof. Ivanka Stankova, PhD, and dissertation topic "Synthesis of Memantine Derivatives with Expected Protective Effect Against Alzheimer's Disease." She was granted the right to defend her dissertation on January 28, 2022 (Order No. 112).

Alexandra Ivanova Tencheva obtained a Bachelor's degree in 2016 and a Master's degree in 2017 in "Biologically Active Substances and Pharmaceuticals" from South-West University "Neofit Rilski." Following her graduation, she began working in the Department of Chemistry, where she was enrolled as a regular PhD student in 2018. In 2023, she was appointed as an assistant in the same department, where she continues to work.

The set of materials submitted by Alexandra Tencheva, both in paper and electronic format, complies with the requirements of the Law on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria (LDASRB), the regulations for its implementation (RILDASRB), and the internal regulations of South-West University "Neofit Rilski." The set of materials includes all required documents: CV, abstract, dissertation, contribution summary, declaration of meeting the minimum national requirements, plagiarism check report via iThenticate, publications on the dissertation topic, and procedural orders.

Ms. Alexandra Tencheva has strictly fulfilled the educational, research, and teaching activities set in her individual PhD study plan. She has accumulated 190 credits, which reflects active and effective doctoral training. During her training, she successfully completed courses in "Chemistry of Amino Acids and Peptides", "Project Preparation and Management", "Prevention of Neurodegenerative Diseases", and "English Language," passing all required exams.

Her research activity includes literature review and analysis, presenting sections of the dissertation, participating in scientific forums, and publishing in peer-reviewed journals. Her teaching activities include seminars and laboratory sessions, thus she has fulfilled her obligations in departmental and faculty work. All requirements under Article 52(2) of the

internal regulations of SWU "Neofit Rilski" and Article 24 of the LDASRB regulations have been met.

The dissertation is 107 pages in total and includes 37 figures, 25 tables, and 8 schemes, with 120 listed references. The dissertation follows the a typical for Bulgaria structure: Introduction, Literature Review, Objectives and Tasks, Experimental Part, Results and Discussion, Conclusions, Contributions, List of Publications, and References.

To meet procedural requirements, results from the dissertation have been published in the journals *Amino Acids* (Q1, IF 25 points) and *Scientia Pharmaceutica* (Q2, SJR 10 points), satisfying the minimum national standards of 30 points, under Article 2b of LDASRB and Article 1a of its regulations.

2. Evaluation of the Dissertation

The dissertation topic aligns with the current trend in synthesizing new organic molecules based on known pharmaceuticals, combined with amino acid fragments to enhance their beneficial properties. The synthesis is not an end in itself; rather, it emphasizes therapeutic potential, particularly targeting neurodegenerative diseases such as Parkinson's Disease (PD) and Alzheimer's Disease (AD). In this regard, the topic is forward-looking, with potential practical applications and serves as a solid foundation for future research.

Relevance of the topic. The work conducted by Alexandra Ivanova Tencheva involves the synthesis of memantine derivatives, incorporating structural modifications with amino acid fragments. Memantine is one of the few approved drugs for symptomatic treatment of Alzheimer's disease, acting via non-competitive blockade of NMDA receptors. However, existing therapies show limited efficacy and considerable side effects. The research focuses on designing molecules with improved bioavailability, reduced toxicity, and enhanced neuroprotective effects.

The aim of the dissertation is clearly formulated: to create novel molecular hybrids in which amino acid residues are combined with structural moiety of memantine. The design targets enhanced pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles by introducing various functional groups that can optimize interactions with biological targets. This type of molecular design — multi-target ligands — reflects modern trends in organic synthesis and pharmaceutical chemistry, aiming to combine different pharmacophoric groups into a single molecule for potential synergistic effects.

Additionally, the dissertation explores alternate strategies for introducing amide and ester bonds, as well as conjugation with different amino acids, highlighting the multifunctionality of the new compounds. As such, the topic is highly relevant because:

- It is based on a validated clinical platform (memantine);
- It seeks to improve the therapeutic profile through innovative molecular modifications;
- It opens avenues for the development of new drug candidates;
- It lays the groundwork for future studies on mechanisms of action and interactions with neuronal targets.

Thus, the dissertation holds potential applicability in the future pharmaceutical industry and contributes to global efforts to develop more effective therapies for neurodegenerative diseases.

3. Problem Awareness

The literature review section included in the thesis spans 52 pages and is divided into three subsections. While no explicit conclusions are drawn, it lays the foundation for defining the research objectives. The review demonstrates a thorough and systematic understanding of current developments in the field of neurodegenerative diseases, with a focus on Alzheimer's disease. The author has conducted an extensive review covering the molecular mechanisms of memantine as an NMDA receptor antagonist and contemporary strategies for modifying known drug molecules to enhance their efficacy and biocompatibility.

The work demonstrates sound understanding of:

- The pathogenesis of neurodegenerative diseases and the role of glutamatergic neurotransmission;
- The pharmacological profile of memantine and its clinical limitations;
- The concept of molecular design involving the introduction of amino acid fragments to achieve multimodal pharmacological effects.

Additionally, the dissertation discusses key methods for organic synthesis, structural verification (thermal analysis, spectral and X-ray structural techniques such as DSC/TGA, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, XRD), and approaches for biological activity evaluation, highlighting the interdisciplinary nature of the research.

A series of new memantine analogues were synthesized using amino acids: H-Phe(4-F)-OH, H-L-Ala-OH, H-Gly-OH, H-Val-OH, H-Phe-OH, H-Ala-OH, and H-Tyr-OH. Four new hybrids with nootropic agents (Vinpocetine, piracetam, modafinil, and picamilon) and two new analogues containing thiazole derivatives were developed.

X-ray crystallographic analysis was performed on two compounds: P-Ala-Mem and (4-F)Phe-Mem. The results indicate that P-Ala-Mem crystallizes in a centrosymmetric manner, while (4-F)Phe-Mem forms non-centrosymmetric crystals.

The antiviral activity of the new compounds was evaluated against influenza A virus strains: A/Fort Monmouth/1/1947 (H1N1), A/Wuhan/359/1995 (H3N2), and A/Jinnan/15/2009 (H1N1). H-Val-Mem was found to be active against the oseltamivir-sensitive A/Fort Monmouth/1/1947 strain.

Tyr-Mem was studied in a model of Parkinson's Disease. Data showed improved memory function in laboratory animals, with effects comparable to memantine but with significantly reduced toxicity. Tyr-Mem's memory-enhancing effect was also similar to that of Vinpocetine and tyrosine, while exhibiting lower acute toxicity. Biological and histological evaluations indicated a positive effect specifically on short-term memory impairment induced by scopolamine, with performance comparable to H-Tyr-OH.

The neuroprotective effects of the new compounds were studied in vitro against an Alzheimer's disease model. Results confirmed that the amino acid-based memantine hybrids conferred protection against toxicity induced by copper ions, glutamate excitotoxicity, oxidative stress, and hypoxia.

Antioxidant and antimicrobial activities of the synthesized analogues were also assessed. The compound H-(4-F)Phe-Mem demonstrated the strongest antibacterial activity, comparable to standard antibiotics such as tetracycline and nystatin.

4. Research Methodology

The methodology applied in the dissertation is appropriately chosen and conforms to current standards for the synthesis and study of new organic compounds with pharmacological potential.

The main stages of the research include:

- Synthetic procedures: Targeted organic synthesis of memantine derivatives via conjugation with various amino acid residues using modern methods such as amination, amide bond formation, and alkyl chain modification.
 - Structural characterization: The synthesized compounds were characterized by:
 - Infrared spectroscopy (IR)
 - Nuclear magnetic resonance (¹H NMR, ¹³C NMR)
 - Elemental analysis
 - X-ray diffraction analysis, ensuring accurate structural and purity confirmation.
- Physicochemical studies: Key parameters such as melting points, solubility in various solvents, and compound stability were determined.
- Biological evaluation (experimental stage): Preliminary approaches were presented for assessing potential neuroprotective activity via literature-based analysis and planned in vitro tests involving models of glutamate-induced neurotoxicity.

The applied methods are appropriate for the thesis's aims and reflect best practices in organic synthesis and pharmaceutical chemistry.

5. Characteristics and Contributions of the Dissertation

The dissertation by Alexandra Ivanova Tencheva represents a comprehensive scientific investigation that integrates synthetic, analytical, and conceptual approaches for the development of novel "neuroprotective" molecules. The work is logically structured, scientifically justified, and demonstrates consistent problem-solving.

The main contributions of the dissertation are:

- Synthesis of new memantine derivatives containing amino acid fragments not previously reported in the scientific literature.
- Development of new synthetic methods enabling efficient production of target compounds with high yields and purity.
- Detailed characterization of the compounds through spectral and physicochemical techniques confirming their structure and properties.
- Structural hypotheses proposed for the possible mechanisms of neuroprotective action, based on established pharmacophore models.
- Conducted biological studies confirming the pharmacological potential of the synthesized compounds.

The dissertation is very well prepared, with a clearly defined goal, logical flow, and critical analysis of the obtained results. It covers a substantial amount of literature, including the most recent publications in the field. The contributions are scientifically novel and practically applicable.

6. Assessment of Publications and the Doctoral Candidate's Contribution

Alexandra Tencheva has demonstrated active scientific engagement throughout her doctoral studies. As a result of her research, she has co-authored several scientific publications in specialized journals and presented at national and international scientific forums. She is a co-author of two publications presenting results from the synthesis, characterization, and planned biological evaluation of new memantine derivatives:

1. Tailoring acyclovir prodrugs with enhanced antiviral activity: Rational design, synthesis, human plasma stability and in vitro evaluation, *Amino Acids*, 2018, 50, 1131–1143.
2. Hydrolytic stability of new amino acids analogues of memantine, *Scientia Pharmaceutica*, 2020, 88(3), 38.

Some of the results have been presented at four scientific conferences, where the work received positive feedback from the academic community (registers 10 citations). The doctoral candidate has also participated in a research project funded by the National Science Fund (contract No. KP-06-M23/2 from 18.12.2018), which is closely aligned with the dissertation topic.

Alexandra Tencheva's personal contribution is evident both in the experimental synthesis and analysis of the new compounds and in formulating the research objectives and interpreting the results.

She has actively fulfilled all commitments outlined in her individual study plan, including participation in research projects and teaching activities, and has contributed to student training through seminars and laboratory classes. Her publication activity meets the requirements for dissertation defense and attests to a high degree of scientific maturity and independence in conducting research.

7. Extended Abstract of the thesis (in Bulgarian “Автореферат”)

The Extended abstract of the dissertation is 55 pages long and accurately presents the core elements of the dissertation work in accordance with established academic norms in Bulgaria.

8. Comments and Recommendations

I have no critical remarks regarding the dissertation.

The obtained results provide a solid foundation for further development of the research in the field of neuroprotective agent synthesis. Based on the identified contributions, the following recommendations can be suggested:

- An attempt should be made to establish structure–activity relationships (SAR). The collected data allow for the construction of initial models describing the correlation

between molecular structure and biological activity, which can support the design of more effective molecules.

- Given the novelty of the compounds, consideration should be given to pursuing patent protection for the most promising structures (or the overall concept).

Conclusion

Alexandra Ivanova Tencheva thesis (dissertation) titled "Synthesis of Memantine Derivatives with Expected Protective Effect Against Alzheimer's Disease," is a thorough and completed scientific study that enriches contemporary knowledge in organic and pharmaceutical chemistry. The topic is modern, current, interdisciplinary, and of high scientific and practical relevance. The applied research methods are modern and appropriate for the work's objectives. The achieved results are original, published, and presented to the academic community. The individual study plan has been strictly followed. The dissertation meets all the requirements of LDASRB, its implementation regulations, and the internal rules of South-West University "Neofit Rilski."

Based on the above, I give a positive evaluation of the dissertation and strongly recommend that the esteemed academic jury award Alexandra Ivanova Tencheva the educational and scientific degree "Doctor" (PhD) in professional field 4.2. Chemical Sciences, doctoral program "Organic Chemistry".

June 6, 2025

Prof. Boris L. Shivachev, PhD