

Югозападен университет „Неофит Рилски“

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за присъждане на ОНС „доктор“
на Александра Иванова Тенчева, в Област на Висше образование 4.
Природни науки, Професионално направление 4.2. Химически науки,
докторска програма по Органична химия

Рецензент: проф. д-р инж. Данчо Любенов Даналев, катедра Биотехнология
на Химикотехнологичен и Металургичен Университет, София

Кандидат: Александра Иванова Тенчева

I. Кратки биографични данни за кандидата

Кандидатката за присъждане на ОНС „доктор“ е завършила висшето си образование в ЮЗУ „Неофит Рилски“, гр. Благоевград в ОКС „Бакалавър“ и „Магистър“, в специалност „Биологично активни вещества и лекарствени средства“ през 2017 г. През 2022 г. завършва допълнителна квалификация за „Учител по химия и по човекът и природата“. Като логично продължение на своето образование и кариерно развитие от 2018 до 2022 г. ас. Тенчева е редовен докторант в катедра „Химия“ на ЮЗУ „Неофит Рилски“, гр. Благоевград с научен ръководител проф. д-р Иванка Станкова, където разработва своя дисертационен труд на тема „Синтез на производни на мемантина с очаквано протективно действие срещу болест на Алцхаймер“. От 2023 г. Александра Тенчева е асистент в катедра „Химия“ на същия университет.

II. Характеристика на научната и научно-приложната продукция на кандидата

От представения ми за рецензия дисертационен труд, към момента на неговата защита са публикувани 2 научни разработки. Едната е в списание

Amino acids (Springer) с и.ф. 3.3 и Q1 в област Органична химия, а втората в списанието Scientia Pharmaceutica (MDPI) с и.ф. 2.3 и Q2. Първата от двете разработки публикувана през 2020 г. отразява частта от дисертационния труд свързана със синтеза и изследване на невропротективните свойства и вирус инхибиращия ефект на група производни на мемантина с природните аминокиселини глицин, валин и тирозин и неприродната аминокиселина 4-флуорофенилаланин. Получени, изведени и дискутирани са интересни зависимости структура-биологична активност, като статията носи 25 точки на кандидатката за придобиване на ОНС „доктор“. Останалите 5 точки от необходимите 30 точки съгласно ЗРАС, ППЗРАС и Вътрешните правила за развитие на академичния състав в ЮЗУ „Неофит Рилски" са получени от втората публикация, носеща точков актив от 20 точки на кандидатката ас. Тенчева, като с 45 точки тя значително надхвърля изискуемите 30 точки за придобиване на ОНС „доктор“ в ПН 4.2. Химически науки. Втората публикация по темата на дисертационния труд разглежда фармакокинетиката на новополучените молекули в частта с тяхната хидролитична стабилност като са използвани две моделни системи с рН 2.0, имитираща стомаха в човешкия организъм и рН 7.4, имитираща кръвна плазма. Използвана е съвременна UV-Vis техника за следене на кинетиката на хидролиза, което показва и изпълнение на обучителния аспект от докторската дисертация, тъй като докторантката е усвоила една перспективна техника за следене кинетиката на реакциите на органични молекули. Направените изследвания показват ясно, относително добра стабилност в използваните моделни системи, което дава обещаваща алтернатива за тяхното използване във фармацевтичната и медицинска практика. Направено е и количествено сравнение, относно кинетиката на хидролиза в интервал от 10 часа между изследваните аналози на мемантина. Квартилите Q1 и Q2 на двете списания, в които са публикувани резултатите от работата по докторската дисертация показват високо научно ниво на

резултатите. Допълнително доказателство за качеството на научната продукция на докторантката са и забелязаните 9 цитата на една от двете работи, което ѝ е донесло *h*-индекс 2 (Scopus). Съществено е да се отбележи, че и в двете представени публикации кандидатката за придобиване на ОНС „доктор“ заема първа позиция сред авторите, което показва нейния съществен принос в представените разработки.

III. Основни приноси в научната, научно-приложната и преподавателска дейност на кандидата

Невродегенеративните заболявания към които спадат Болестта на Паркинсон и Болестта на Алцхаймер освен негативните здравословни ефекти върху пациентите, страдащи от тях имат и изключително негативни социални последици, свързани с необходимостта от непрестанна грижа от страна на близките на болелите, както и от страна на държавата в лицето на социалните институции и здравните заведения. В допълнение етиологията на тези заболявания все още не е докрай изяснена, като съществуват редица теории, с които докторантката показва, че се е запознала в направеното от нея литературно проучване във връзка с дисертационния труд, всяка от които има своите основания. Това е и основната причина, поради която понастоящем независимо от точката на света невродегенеративните заболявания остават нелечими и водят до пълна инвалидизация на болелите. Днес предлаганите от медицината лечения водят само до подобряване на когнитивните и поведенческите симптоми, но нито едно от прилаганите лекарства не може значително да подобри качеството на живот на пациентите, докато за всички тези заболявания е характерна негативна прогресия с различна бързина. Някой от въвежданите през годините лекарства за третиране на пациенти с невродегенеративни заболявания са понастоящем изтеглени от пазара поради доказани значителни странични ефекти, което силно намалява броя на прилаганите в

момента за лечение медикаменти и нуждата от създаване на нови лекарствени молекули с невропротективни свойства. В резултат на направена задълбочена литературна справка по темата на дисертационния труд основана на 120 литературни източника, от които 57 са след 2015 година, 60 са преди 2015 година, а за 3 няма цитирана година на излизане, ясно и точно са формулирани амбициозни цел и задачи на настоящия дисертационен труд. Те са в логично продължение на работата в катедра „Химия“ на ЮЗУ „Неофит Рилски“ по създаването на предлекарства за третиране на различни заболявания с мултитаргетен ефект, базирано на съвременните схващания за мултипричинния характер на голяма част от заболяванията.

Представеният дисертационен труд е насочен към синтез, охарактеризиране и изследване на биологичната активност на новите мемантинови производни с протеиногенни и непротеиногенни аминокиселини, дипептиди и хетероциклени съединения, както и конюгати с познати от практиката ноотропици с цел намиране на синергичен ефект между двата фармакофора. Всички съединения са неописани до момента в литературата, което придава новост на дисертационния труд, каквато е и целта му за търсене на съвременна мултитаргетна терапия. За получаване на таргетните молекули са използвани стандартни методи за синтез в разтвор, но трябва да се отбележи, че като активиращи агенти са използвани най-съвременните комерсиално налични такива, което е довело до запознаване на дисертантката с техните предимства и недостатъци, механизма на активиране на таргетните молекули и нуждата от последващо пречистване от нежелани странични продукти.

Приносите в настоящия дисертационен труд могат да бъдат обобщени в две основни групи:

- Целеви дизайн, синтез чрез стандартен синтез в разтвор с използване на съвременни кондензиращи средства и охарактеризиране със съвременни

аналитични техники за доказване на органични молекули на **16** нови аналози на мемантин с природни, и неприродните аминокиселини, дипептиди, тиазолови производни както и с ноотропиците кавинтон, пирацетам, модафинил и пикамилон;

- Биологични изследвания спрямо различни заболявания с цел мултитаргетна терапия като са изведени важни зависимости структура-активност за новосинтезираните молекули, които са сведени до знанието на научната общност, работеща в близки тематики чрез публикуването им в две престижни международни издания, реферирани в базите данни Scopus и Web of Sciences, както и да представени на 4 международни научни форума.

В резултат на направените изследвания са изведени следните нови зависимости структура-биологична активност:

- При изследването на хидролитичната стабилност на получените аналози на мемантин е установено, че тя е задоволителна за период от над 10 часа в моделни системи на стомах и кръвна плазма;

- Определянето на липофилността на съединенията и сравнителният анализ показват, че увеличаването на обема на молекулата с включване на ароматен пръстен води до съществено увеличаване на липофилността;

- *In vitro* изследването на антиоксидантната активност на новосинтезираните молекули показва общо незначителен антиоксидантен потенциал. Изключение се наблюдава за три от новосинтезираните съединения - конюгата на мемантина с дипептида Gly-Gly и производните му с природен и неприроден Phe;

- *In vitro* изследването на антивирусната активност срещу няколко групи грипни вируси показва, че съединения са неактивни, с изключение на аналога с аминокиселината Val, който показва гранична активност;

- При изследвания за ефекти при Болестта на Паркинсон мемантиновия аналог с Тур показва подобряване на паметовите функции съизмеримо с това на изходния мемантина, но с предимството на намалена токсичност. В

допълнение биологичните и хистологични изследвания на същата молекула разкриват, че тя има положителен ефект само върху нарушената от скополамина краткосрочна памет, като ефектът е съизмерим с този на въведената аминокиселина;

- *In vitro* изследването на невропротективното действие при Болестта на Алцхаймер показва, че аминокиселинните производни на мемантина имат невропротективни ефекти срещу индуцирани от медни йони A β токсичност, индуцирана от глутамат екситотоксичност, оксидативен стрес и хипоксия, както и инхибират възпалителното освобождаване на цитокини от активираната микроглия с потенциален антинеуровъзпалителен ефект

- При изследване на антимикробната активност е установено, че производното на мемантина с флуориран Phe действа ефективно срещу всички изследвани G⁺ и G⁻ щамове микроорганизми, като инхибиторния му ефект е съизмерим с този на антибиотиците тетрациклин и нистатин.

Всички получени резултати имат основно научен принос за доказване на важни зависимости структура-активност, но част от тях дават основание да се счита, че някои от новосинтезираните молекули могат да намерят приложение като нови лекарства в медицинската практика.

Трябва да се отбележи, че по време на разработване на дисертационния труд докторантката се е запознала не само с методики за синтез и охарактеризиране на органични молекули, които покриват ПН 4.2. Химически науки, но е навлязла и то в значителна степен в методики свързани с биологичните изследвания на различни ефекти на тези молекули като антибактериалната им активност, ензим инхибиращо действие, паметови нарушения при невродегенеративни разстройства, антиоксидантен потенциал, хелиращ ефект и редица други, което е допълнило образователната част от разработването на дисертационния труд. Принос към успешното завършване и оформяне на настоящия дисертационен труд неминуемо има и факта че докторантката понастоящем заема позицията на

асистент в катедра „Химия“ на ЮЗУ „Неофит Рилски“, където води семинарни и лабораторни занятия със студенти от специалностите: Медицинска химия, Педагогика на обучението по химия и физика, Педагогика на обучението по химия и човекът и природата.

IV. Критични бележки и препоръки

Основната ми забележка към дисертантката е, че представената литература в края на дисертационния труд е нееднородно описана и препоръчвам в бъдещите нейни работи да коригира този пропуск.

V. Заключение

В резултат на направения задълбочен анализ на дисертационния труд, както и дейността на докторантката съгласно изготвения ѝ индивидуален план считам, че всички предвидени дейности, покриващи изискванията за образователната и научна степен „доктор“, поставени в ЗРАС, ППЗРАС и Вътрешните правила за развитие на академичния състав в ЮЗУ „Неофит Рилски“ са изпълнени от кандидатката за нейното придобиване ас. Александра Иванова Тенчева, което ми дава основание да гласувам положително да ѝ бъде присъдена ОНС „доктор“ в Област на Висше образование 4. Природни науки, Професионално направление 4.2. Химически науки, докторска програма по Органична химия.

09.06.2025 г.

Рецензент:

/проф. д-р инж. Данчо Даналев/

REVIEW

of Ph.D. thesis for scientific and educational degree „**doctor of philosophy**“
in the field of higher education 4. *Natural sciences, mathematics and informatics*
professional field 4.2. *Chemical sciences*
doctoral program *Organic chemistry*

Reviewer: Prof. Dancho Lyubenov Danalev, Ph.D.

Author: Alexandra Ivanova Tencheva

I. Short description of the candidate

The candidate for the acquisition of scientific and educational degree „doctor of philosophy“ completed her higher education at the South-West University "Neofit Rilski", Blagoevgrad with "Bachelor" and "Master" degrees, in the specialty "Biologically active substances and medicinal products" in 2017. In 2022, she passed additional qualification for "Teacher of Chemistry and Man and Nature". As a logical continuation of her education and career development from 2018 to 2022, Assist. Prof. Tencheva is a full-time doctoral student in the Department of Chemistry of the South-West University "Neofit Rilski", Blagoevgrad with scientific supervisor Prof. Dr. Ivanka Stankova, where she is developing her dissertation on the topic "Synthesis of memantine derivatives with expected protective effect against Alzheimer's disease". Since 2023, Alexandra Tencheva has been an assistant professor in the Department of Chemistry of the same university.

II. Characteristics of the candidate's scientific and applied scientific production

From the submitted for review Ph.D. thesis, 2 scientific papers have been published till the time of the defense. One is in the journal Amino acids (Springer) with an impact factor of 3.3 and Q1 in the field of Organic Chemistry, and the second in the journal Scientia Pharmaceutica (MDPI) with an impact factor of 2.3

and Q2. The first of the two papers, published in 2020, describes the part of the presented Ph.D. thesis related to the synthesis and study of the neuroprotective properties and virus inhibitory effect of a group of memantine derivatives with the natural amino acids glycine, valine and tyrosine and the unnatural amino acid 4-fluorophenylalanine. Interesting structure-biological activity relationships were obtained, summarized and discussed, and the article brings 25 points to the candidate for the "doctor" degree. The remaining 5 points of the required 30 points according to the National and Local regulations were obtained from the second publication, carrying a point asset of 20 points for the candidate, Assistant Professor Tencheva, and with 45 points she significantly exceeds the required 30 points for acquiring of the degree in professional direction 4.2. Chemical Sciences. The second publication on the topic of the dissertation examines the pharmacokinetics of the newly obtained molecules in the part of their hydrolytic stability, using two model systems with pH 2.0, imitating the stomach in the human organism and pH 7.4, mimicking the human blood plasma. A modern UV-Vis technique was used to monitor the kinetics of hydrolysis, which also shows the implementation of the educational aspect of the doctoral education, since the doctoral student has mastered a promising technique for monitoring the kinetics of reactions of organic molecules. The studies conducted clearly show relatively good stability in the used model systems, which provides a promising alternative for their use in pharmaceutical and medical practice. A quantitative comparison was also made regarding the kinetics of hydrolysis in an interval of 10 hours between the studied memantine analogues. The quartiles Q1 and Q2 of the two journals in which the results of the doctoral dissertation work were published show a high scientific level of the results. Additional evidence of the quality of the doctoral student's scientific production are the 9 citations noted for one of the two works, which earned her an *h*-index of 2 (Scopus). It is important to note that in both presented publications the candidate Assist. Prof. Tencheva occupies the first position among the authors, which indicates her significant contribution to the presented works.

III. Main contributions to the candidate's scientific, applied scientific and teaching activities

Neurodegenerative diseases, which include Parkinson's Disease and Alzheimer's Disease, in addition to the negative health effects on patients suffering from them, also have extremely negative social consequences, related to the need for constant care by the family of the sick, as well as by the state by social institutions and health facilities. In addition, the etiology of these diseases has not yet been fully clarified, and there are a number of theories that the doctoral student shows that she has become acquainted with in the literature study she conducted in a relation with the Ph.D. thesis development, each of which has its own basis. This is also the main reason why, regardless of where in the world neurodegenerative diseases remain incurable and lead to complete disability of the sick. Today, the treatments offered by medicine lead only to the improvement of cognitive and behavioral symptoms, but none of the drugs used can significantly improve the quality of life of patients, while all these diseases are characterized by negative progression with varying speed. Some of the drugs introduced over the years for the treatment of patients with neurodegenerative diseases have currently been withdrawn from the market due to proven significant side effects, which greatly reduces the number of medications currently used for treatment and the need to create new drug molecules with neuroprotective properties. As a result of an in-depth literature review on the topic of the dissertation based on 120 literary sources, of which 57 are after 2015, 60 are before 2015, and for 3 there is no cited year of publication, ambitious goals and objectives of the current dissertation have been clearly and precisely formulated. They are a logical continuation of the work in the Department of Chemistry of the South-West University "Neofit Rilski" on the creation of prodrugs for the treatment of various diseases with a multi-target effect, based on modern concepts of the multi-causal nature of many of the diseases.

The presented Ph.D. is aimed to the synthesis, characterization and study of the biological activity of new memantine derivatives with proteinogenic and non-

proteinogenic amino acids, dipeptides and heterocyclic compounds, as well as conjugates with nootropics known from practice in order to find a synergistic effect between the two pharmacophores. All compounds are undescribed so far in the literature, which gives novelty to the dissertation, which is also its goal of searching for modern multitarget therapy. To obtain the target molecules, standard methods for synthesis in solution were used, but it should be noted that the most modern commercially available condensation agents were used as activating agents, which led to the acquaintance of Ph.D. student with their advantages and disadvantages, the mechanism of activation of the target molecules and the need for subsequent purification from unwanted by-products.

The contributions in this dissertation can be summarized in two main groups:

- Targeted design, synthesis by standard solution synthesis using modern condensing agents and characterization with modern analytical techniques for determination of structure of organic molecules of 16 new analogs of memantine with natural and unnatural amino acids, dipeptides, thiazole derivatives as well as with the nootropics cavintone, piracetam, modafinil and picamilon;
- Biological studies on various diseases for the purpose of multitarget therapy, as important structure-activity relationships have been derived for the newly synthesized molecules, which have been brought to the attention of the scientific community working in similar topics through their publication in two prestigious international journals, referenced in the Scopus and Web of Sciences databases, as well as presentation at 4 international scientific forums.

As a result of the studies, the following new structure-biological activity relationships were revealed:

- When studying the hydrolytic stability of the obtained memantine analogues, it was found that it is satisfactory for a period of over 10 hours in model systems of the stomach and blood plasma;
- Determination of the lipophilicity of the compounds and comparative analysis show that introducing of the spacy group such as aromatic cycle in the molecule leads to a significant increase in lipophilicity;

- *In vitro* study of the antioxidant activity of the newly synthesized molecules shows generally insignificant antioxidant potential. An exception is observed for three of the newly synthesized compounds - the conjugate of memantine with the dipeptide Gly-Gly and its derivatives with natural and unnatural Phe;

- *In vitro* study of the antiviral activity against several groups of influenza viruses shows that the compounds are inactive, with the exception of the analogue with the amino acid Val, which shows a limited activity;

- In studies of effects in Parkinson's disease, the Tyr-containing memantine analogue showed an improvement in memory functions comparable to that of the original memantine, but with the advantage of reduced toxicity. In addition, biological and histological studies of the same molecule revealed that it has a positive effect only on scopolamine-impaired short-term memory, the effect being comparable to that of the introduced amino acid;

- *In vitro* neuroprotective studies in Alzheimer's disease show that amino acid derivatives of memantine have neuroprotective effects against copper-induced A β toxicity, glutamate-induced excitotoxicity, oxidative stress and hypoxia, as well as inhibiting inflammatory cytokine release from activated microglia with potential anti-neuroinflammatory effect

- In antimicrobial activity studies, it was found that the fluorinated Phe derivative of memantine is effective against all tested G⁺ and G⁻ strains of microorganisms, with its inhibitory effect comparable to that of the antibiotics tetracycline and nystatin.

All the results obtained have a mainly scientific contribution to proving important structure-activity relationships, but some of them give reason to believe that some of the newly synthesized molecules may find application as new drugs in medical practice.

It should be noted that during the development of the Ph.D., the doctoral student became familiar not only with methods for the synthesis and characterization of organic molecules, which cover PD 4.2. Chemical Sciences, but also entered to a significant extent into methods related to the biological

studies of various effects of these molecules such as their antibacterial activity, enzyme inhibitory effect, memory disorders in neurodegenerative disorders, antioxidant potential, chelating effect and a number of others, which complemented the educational part of the development of the dissertation. A contribution to the successful completion and shaping of this dissertation work is inevitably made by the fact that the doctoral student currently occupy the position of Assistant professor in the Department of Chemistry at the South-West University "Neofit Rilski", where she heads seminar and laboratory classes with students from the following specialties: Medical Chemistry, Pedagogy of Teaching Chemistry and Physics, Pedagogy of Teaching Chemistry and Man and Nature.

IV. Critical notes and recommendations

My main remark to the Ph.D. student is that the literature presented at the end of the dissertation is described in an inconsistent manner, and I recommend that she correct this omission in her future works.

V. Conclusion

As a result of the in-depth analysis of the presented Ph.D. thesis, as well as the activities of the doctoral student according to her prepared individual plan, I believe that all planned activities covering the requirements for the educational and scientific degree „doctor of philosophy “, set out in the national and local regulations have been fulfilled by the candidate for its acquisition, Assistant Professor Alexandra Ivanova Tencheva, which gives me reason to vote **positively** to award her the educational and scientific degree „doctor of philosophy “ in the Field of Higher Education 4. Natural Sciences, Professional Direction 4.2. Chemical Sciences, doctoral program in Organic Chemistry.

09.06.2025

Reviewer:

Prof. Eng. Dancho Danalev, Ph.D.