

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Руси Иванов Русев, ИМК-БАН

член на Научно жури, назначено със заповед № 1109/09.05.2025г. на ректора на
ЮЗУ „Неофит Рилски“, Благоевград

върху дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“
в професионално направление 4.2. Химически науки, докторска програма:
„Органична химия“

Автор: Александра Иванова Тенчева

Тема на дисертационен труд: "Синтез на производни на мемантина с очаквано протективно действие срещу болест на Алцхаймер"

Научен ръководител: проф. д-р Иванка Станкова

1. Обобщени данни за научната продукция и дейността на кандидата

Представените от Александра Тенчева комплект документи и материали към конкурса за придобиване на ОНС „доктор“ отговарят на изискванията на ЗРАСРБ, правилника за прилагане на ЗРАСРБ и вътрешните правила за развитие на академичния състав в ЮЗУ „Неофит Рилски“. Александра Иванова Тенчева е изпълнила, качествено и в срок, всички заложи в индивидуалния учебен план дейности (образователни, научноизследователски и педагогически), като е събрала общ брой кредити от 190. Дисертационният труд на Александра Иванова Тенчева се състои от 107 страници основен текст, 37 фигури, 25 таблици и 120 литературни източника. Дисертационният труд е структуриран класически и се състои от: Въведение, Литературен обзор, Цел и задачи; Експериментална част; Резултати и обсъждане; Приноси, Изводи и Използвана литература. Резултатите от дисертационния труд на Александра Иванова Тенчева са публикувани в две статии - *Amino acids* (2020, Q1, SJR) и *Scientia Pharmaceutica* (2020, Q2, JCR) и са докладвани на четири (4) международни конференции. Забелязани са общо десет цитата на публикациите. Натрупания брой точки от публикации е 45т. (изискуеми 30 т., показател Г), с което се изпълняват минималните национални изисквания съгласно чл. 2б. от ЗРАС и чл. 1а от ППЗРАС.

2. Оценка на научните и на практическите резултати и приноси на дисертационния труд.

2.1 Актуалност и значимост на дисертационния труд

Темата на дисертационния труд е насочена към разработването на нови молекули с потенциално невропротективно действие срещу болестта на Алцхаймер (AD) – заболяване с нарастваща социална и здравна значимост. С оглед ограничената ефективност на съществуващите терапии и сериозната нужда от иновативни многофункционални подходи, дисертационният труд на Александра Тенчева е изключително актуален. Поставените цели и задачи са логически издържани, насочени към синтез и биологична оценка на нови производни на мемантин чрез комбиниран подход, включващ синтетична органична химия, биохимия и фармакология. Изборът на мемантин като фармакофорна основа е стратегически обоснован, предвид неговото одобрение за лечение на умерена до тежка деменция и добре проучения му механизъм на действие. Фокусът върху комбиниране на мемантин с други биоактивни молекули –

аминокиселини, пептиди, ноотропици и тиазоли – цели едновременно въздействие върху различни молекулни мишени, включително инхибиране на холинестеразите, ограничаване на оксидативния стрес и блокиране на N-метил-D-аспартатния рецептор (NMDAR).

2.2. Литературен обзор

Литературният обзор е обширен, аналитичен и добре структуриран. Представени са основните терапевтични направления при лечението на AD, като специално внимание е обърнато на NMDAR антагонистите и холинестеразните инхибитори. Дисертантът изчерпателно е обобщил актуалните научни данни за синтеза на хибридни молекули, съчетаващи двете фармакофорни групи. Отчетено е съществуването на множество подходи за комбинирана терапия и техните предимства и ограничения. Разгледани са също така най-новите разработки в областта на химически модифицирани молекули, включително такринови, галантаминови и ферулови хибриди. Представени са съвременни фармакологични стратегии, включващи инхибиране на AChE и BuChE, както и блокиране на NMDAR активността и въздействие върху амилоидната агрегация. Дисертантът е демонстрирал задълбочено разбиране на биохимичната и патофизиологичната основа на AD, както и на предимствата и ограниченията на различните лекарствени подходи. Приложени са множество структурни схеми, таблици и диаграми, които свидетелстват за отлична информираност и интерпретативни умения.

2.3. Методика на изследването

Използваната методология е съвременна, разнообразна и напълно съответства на целите на изследването. Включени са различни синтетични подходи за получаване на мемантинови хибриди с аминокиселини, ноотропици, тиазоли и други фармакофорни фрагменти. За структурата и чистотата на продуктите са използвани утвърдени аналитични методи (ЯМР, ИЧ, УВ-ВИС, МКРСА, BETX, МС и др.), а тяхната биологична активност е оценена чрез *in vitro* (ензимни, антиоксидантни, невропротективни тестове) и *in vivo* (поведенчески и хистохимични) модели. В обхвата на методиката са включени и *in vitro* тестове за антимикробна и антивирусна активност, чрез които е оценена ефективността на мемантиновите хибриди спрямо различни патогенни микроорганизми и грипен вирус тип А. Особено впечатляваща е интеграцията на химичен синтез със сложни биологични модели, включително оценка на токсичност, мембранна пропускливост, поведенчески тестове при животински модели на деменция, както и анализ на оксидативен стрес и възпалителни маркери. Дисертацията представя цялостна рамка за оценка на нови лекарствени кандидати — от химичната структура до фармакологичната активност. Това показва способността на автора да работи в интердисциплинарна среда и да прилага научен подход в цялата верига на изследване и валидация.

2.4. Основни резултати и приноси на дисертационния труд

Дисертационният труд е логично структуриран, изчерпателен и обоснован с експериментални данни. Авторът прилага комплексен подход, обединяващ синтетична химия, биологична верификация и фармакологично тестване. Получените резултати са интерпретирани задълбочено, с ясно съзнание за връзката между структура и активност.

Основните научни резултати и приноси на дисертационната работа могат да бъдат формулирани в следните направления:

- Синтезирани са общо 14 нови мемантинови хибриди, съдържащи аминокиселини, малки пептиди, ноотропици и тиазолови фрагменти, чрез прилагане на разнообразни синтетични подходи допринасящи за високи добиви

- и добра химична чистота. Всички получени вещества са детайлно охарактеризирани с редица спектрални и физикохимични методи;
- Доказана е AChE и NMDAR инхибиторна активност на някои от производните чрез *in vitro* методи, с установени IC50 стойности, конкурентни на референтните лекарства;
 - Оценена е антиоксидантна активност, включително радикал-улавящ капацитет спрямо DPPH, супероксидни и хидроксилни радикали, както и хелиращи свойства;
 - Осъществени са *in vivo* невропротективни изследвания, включващи поведенчески тестове и биохимичен анализ при миши модел на деменция, демонстриращи повлияване на когнитивната функция и оксидативен стрес;
 - Изследвана е антимикробната и противовирусна активност на веществата, чрез тестове срещу грам-положителни и грам-отрицателни бактерии, дрожди и грипни вируси. Определени са зони на инхибиране, минимални инхибиращи концентрации (MIC) и проведени time-kill анализи, разкриващи нова потенциална приложимост на синтезираните съединения.

3. Критични бележки и препоръки

Нямам критични бележки към дисертационния труд.

Дисертационният труд е цялостен и добре структуриран. Една възможна насока за доразвиване на изследванията е провеждането на допълнителни фармакокинетични и токсикологични анализи върху водещите съединения, с цел оценка на дългосрочна безопасност и ефективност. Също така, би било целесъобразно да се проучи възможността за патентоване на най-активните структури.

4. Заключение

Представеният дисертационен труд напълно отговаря на изискванията за присъждане на образователната и научна степен „доктор“. Той демонстрира висока научна стойност, значимост на поставените задачи и оригиналност на получените резултати. Кандидатът Александра Тенчева проявява самостоятелност, компетентност и иновативно мислене при решаването на сложни научни задачи. Получените резултати имат потенциално практическо приложение в областта на лекарствения дизайн срещу невродегенеративни заболявания.

На основание гореизложеното давам **положителна оценка** на дисертационния труд и предлагам на уважаемото Научно жури да присъди на Александра Иванова Тенчева образователна и научна степен „доктор“ в професионално направление „4.2. Химически науки“, докторска програма „Органична химия“.

Дата:
04. 06. 2025г

Член на журито:
Доц. д-р Руси Иванов Русев
(Подпис)

APPRAISAL

by assoc. prof. Rusi Ivanov Rusev, PhD, Institute of Mineralogy and Crystallography,
Bulgarian Academy of Sciences (IMC-BAS)

member of the Scientific Jury appointed by Order No. 1109/09.05.2025 of the Rector
of the South-West University “Neofit Rilski”, Blagoevgrad

regarding the PhD dissertation submitted for the degree of Doctor in professional field
4.2. Chemical Sciences, doctoral program “Organic Chemistry”

Author: Aleksandra Ivanova Tencheva

Dissertation Title: "Synthesis of Memantine Derivatives with Expected Protective Activity Against Alzheimer's Disease"

Scientific supervisor: Prof. Ivanka Stankova, PhD

1. Summary of the Scientific Contributions and Activities of the Candidate

The documents and materials submitted by Aleksandra Tencheva in support of her application for the Ph.D. degree fully comply with the requirements of the Bulgarian Law on the Development of Academic Staff, its implementing regulations, and the internal rules of the South-West University “Neofit Rilski”. Aleksandra Ivanova Tencheva has successfully completed all activities outlined in her individual study plan, including educational, research, and teaching components, accumulating a total of 190 credits. Her dissertation consists of 107 pages of main text, 37 figures, 25 tables, and 120 references. It follows a classical structure: Introduction, Literature Review, Objectives and Tasks, Experimental Section, Results and Discussion, Contributions, Conclusions, and References. Results have been published in two peer-reviewed articles (*Amino Acids*, 2020, Q1, SJR and *Scientia Pharmaceutica*, 2020, Q2, JCR) and presented at four international conferences. The publications have been cited ten times. The total score from publications is 45 points (minimum required: 30), thus meeting the national requirements as per Art 2b of the Academic Staff Development Act.

2. Evaluation of the Scientific and Practical Results and Contributions

2.1. Relevance and Significance of the Dissertation

The dissertation is focused on the development of new molecules with potential neuroprotective effects against Alzheimer’s disease (AD) – a condition of increasing social and medical importance. Given the limited efficacy of current therapies and the pressing need for innovative, multifunctional approaches, the work of Aleksandra Tencheva is highly relevant. The objectives and tasks are logically formulated, targeting the synthesis and biological evaluation of novel memantine derivatives through a combined approach that includes synthetic organic chemistry, biochemistry, and pharmacology. The selection of memantine as a pharmacophoric core is strategically justified due to its approved use in moderate to severe dementia and its well-understood mechanism of action. The focus on combining memantine with other bioactive fragments—amino acids, peptides, nootropics, and thiazoles—aims at achieving a multitarget effect, including cholinesterase inhibition, oxidative stress reduction, and NMDA receptor blockade.

2.2. Literature Review

The literature review is comprehensive, analytical, and well-structured. It presents the main therapeutic strategies in AD treatment, with special attention to NMDAR antagonists and cholinesterase inhibitors. The candidate has thoroughly summarized current research on hybrid molecules combining both pharmacophores. Various approaches to combination therapy, including their advantages and limitations, are discussed. Recent advances in chemically modified compounds, such as tacrine-, galantamine-, and ferulic-based hybrids, are reviewed. Modern pharmacological strategies are presented, including AChE and BuChE inhibition, NMDAR blockade, and inhibition of amyloid aggregation. The candidate demonstrates a strong understanding of the biochemical and pathophysiological basis of AD and the strengths and limitations of different therapeutic approaches. Numerous structural schemes, tables, and diagrams reflect excellent knowledge and interpretive skills.

2.3. Methodology

The applied methodology is modern, diverse, and fully aligned with the research objectives. Multiple synthetic strategies were employed to obtain memantine hybrids with amino acids, nootropics, thiazoles, and other pharmacophoric fragments. Standard analytical methods (NMR, IR, UV-Vis, SCXRD, HPLC, MS, etc.) were used for structural elucidation and purity assessment. Biological activity was evaluated via *in vitro* assays (enzyme inhibition, antioxidant, neuroprotective tests) and *in vivo* models (behavioral and histochemical assays). The methodology also includes antimicrobial and antiviral activity assays, assessing efficacy against pathogenic microorganisms and influenza virus A. Particularly impressive is the integration of chemical synthesis with complex biological models—covering toxicity, membrane permeability, behavioral tests in animal models of dementia, and analysis of oxidative stress and inflammatory markers. The dissertation presents a comprehensive framework for evaluating new drug candidates, from chemical structure to pharmacological effect, demonstrating the author's ability to work in an interdisciplinary environment and apply a rigorous scientific approach.

2.4. Main Results and Contributions of the Dissertation

The dissertation is logically structured, comprehensive, and supported by experimental data. The author applies a multidisciplinary approach combining synthetic chemistry, biological validation, and pharmacological testing. The results are interpreted in depth with a clear understanding of the structure-activity relationship.

The main scientific results and contributions of the dissertation can be summarized as follows:

- A total of 14 new memantine hybrids were synthesized, incorporating amino acids, small peptides, nootropics, and thiazole fragments, using various synthetic strategies that ensured high yields and good chemical purity. All compounds were fully characterized using a range of spectroscopic and physicochemical techniques.

- *In vitro* evaluation confirmed that several derivatives exhibited AChE and NMDAR inhibitory activity, with IC₅₀ values comparable to those of reference drugs.
- The antioxidant activity of the compounds was assessed, including their radical scavenging capacity against DPPH, superoxide, and hydroxyl radicals, as well as metal-chelating properties.
- *In vivo* neuroprotective studies were performed, including behavioral tests and biochemical analysis in a mouse model of dementia, demonstrating improvements in cognitive function and reduction of oxidative stress.
- Antimicrobial and antiviral activity was evaluated through assays against Gram-positive and Gram-negative bacteria, yeasts, and influenza viruses. Zones of inhibition, minimum inhibitory concentrations (MIC), and time-kill analyses were determined, indicating potential applications of the synthesized compounds.

3. Critical Remarks and Recommendations

I have no critical remarks regarding the dissertation.

The dissertation is comprehensive and well-structured. One potential direction for further research could include additional pharmacokinetic and toxicological studies of the lead compounds to assess their long-term safety and efficacy. It would also be advisable to explore the possibility of patenting the most active structures.

4. Conclusion

The presented dissertation fully meets the requirements for awarding the educational and scientific degree 'Doctor'. It demonstrates significant scientific merit, relevance of the objectives, and originality of the results. The candidate, Aleksandra Tencheva, exhibits independence, competence, and innovative thinking in addressing complex scientific challenges. The results obtained have potential practical applications in the field of drug design for neurodegenerative diseases.

Based on the above, I give a **positive evaluation** of the dissertation and recommend that the Scientific Jury award Aleksandra Ivanova Tencheva the degree of 'Doctor' in the professional field 4.2. Chemical Sciences, doctoral program 'Organic Chemistry'.

Date: 04.06.2025

Member of the Jury:

Assoc. Prof. Rusi Ivanov Rusev, PhD

(Signature)