

# РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на тема: **Аналози на противовирусни препарати – синтез и биологична активност**

представен от докторант Кирил Николов Чучков

за присъждане на образователната и научна степен „**доктор**” по научната специалност

4.2. „Химически науки” (Органична химия)

от доц. д-р инж. Данчо Любенов Даналев, катедра „Биотехнология”,

Химикотехнологичен и металургичен университет - София

## **Кратки биографични данни**

Магистър Кирил Чучков е роден на 26 март 1978 г. Висшето си образование в двете ОКС „бакалавър” и „магистър“ завършва в ЮЗУ „Неофит Рилски“, гр. Благоевград, съответно през 2007 г. и 2010 г. по специалностите „Химия“ и „Биологичноактивни вещества и лекарствени средства“. По време на своето обучение като бакалавър той е имал две краткосрочни специализации (по един месец) по проект на ДААД в университета в гр. Падерборн, Германия в лабораторията на Проф. Karsten Krohn по Синтез на аналози на противовирусни препарати. От тези специализации и придобитите от него ОКС логично продължение на образованието му е неговата докторска степен в областта на Органичната химия, за която той е зачислен през 2011 г. към катедра „Химия“ на ЮЗУ „Неофит Рилски. От месец октомври до месец декември, 2010 г. в рамките на един семестър Кирил Чучков е хоноруван асистент към катедра „Химия“, като води упражнения по дисциплините „Биохимия“, „Биоорганична химия“ и „Високомолекулни съединения“, което несъмнено е спомогнало за надграждане и задълбочаване на неговите познания в областта на разработване на дисертационния му труд.

## **Преглед на дисертационния труд и анализ на резултатите**

Представената ми за рецензия дисертация е разработена на 148 стандартни страници и включва стандартните раздели: Въведение – 1 стр., Литературен обзор - 42, Цел и задачи - 2, Резултати и обсъждане - 49, Експериментална част - 29, Изводи – 3 и Приноси от дисертационния труд – 1 стр. Много добре е спазен балансът между литературния обзор и постигнатите от докторанта лични резултати. Цитираната литература обхваща голям брой източници, като още тук ще си позволя да изкажа

своята забележка, че ако всички те бяха подредени по азбучен ред вместо по номерация, това би направило много по-лесно тяхното откриване, ползване и забелязването на дублирани източници. Цитирането на огромен брой източници под един и същи номер с подточки a, b, c и т.н. както е направил докторанта намирам за непрегледно и неудобно за бъдещо използване, а то навежда и на мисълта за директно прецитиране на литературните източници от различни статии. За съжаление този начин на представяне на литературата прави невъзможно проследяването на броя на литературните източници след 2000 година, което би било свидетелство за актуалността на направения литературен обзор. Литературата е нееднородно цитирана като веднъж годината е в скоби, друг път извън скоби, веднъж е в началото на цитата, друг път в края и т.н.

Трудът е насочен към синтез на аналози на противовирусни препарати и изцяло отговаря на научната специалност 4.2. „Химически науки”. Бих искал да отбележа с голямо задоволство, че докторантът не само е синтезирал голям брой нови съединения с потенциална противовирусна активност, а новосинтезираните съединения са изпитани за биологична активност, което придава завършеност на дисертационния труд и прави неговия принос към практическия аспект на ОНС значим.

Някои от вирусните заболявания в това число грипните, HIV и др. се превърнаха в пандемия за последният век. Погледите на редица научни групи са насочени към откриването на нови химиотерапевтици способни избирателно и с ниска степен на странично действие да атакуват тези вируси. За съжаление мутацията, а от там и придобиването на резистентност на подобен род вируси към съществуващите на пазара лекарства е толкова бърза, че разработването на нови субстанции с желаните фармакологични свойства се превърна в огромно предизвикателство към учените. Грипният вирус в частност е един от най-изменчивите и често пъти може да е силно вирулентен особено заразявайки хора, страдащи от съпътстващи заболявания. В допълнение той засяга хора от всички възрастови групи като не проявява никаква селективност. При сезонните грипни епидемии се наблюдава както цикличност в появата на известни щамове грипен вирус, така нови щамове претърпели частични мутации, като често пъти използваните лекарства в предишна година се оказват неефективни и се налага смяна на терапията. В допълнение част от ефективните лекарствени средства на пазара показват странични ефекти като алергични реакции, висока токсичност, невъзможност да бъдат прилагани при хора с определени съпътстващи заболявания и др. Всичко това е наложило динамично търсене на нови

противовирусни средства, а създаването на предлекарства се оказва обещаваща алтернатива в тази насока. В този контекст несъмнено е, че тематиката на настоящият дисертационен труд е изключително атрактивна и важна от практическа гледна точка.

Разделът **Литературен обзор** е написан на изключително добър научен език и в него ясно личи аналитичния подход на докторанта. Последователно той разглежда използваните в медицинската практика препарати за лечение на HSV-1 и 2 (Херпес симплекс вируси 1 и 2) (ацикловир, ганцикловир и пенцикловир) и противогрипните препарати инхибитори на невроамидазата (занамивир, ланинамивир, оселтамивир и перамивир) и на M2 йонния канал (аминоадаманти). Внимание е обърнато и на модерните противохерпесни и противовирусни предлекарствени средства. Разгледана е структурата на грипния вирус и механизма на действие на отделните лекарствени препарати от фармацевтичния пазар. Докторантът в своя обзор е използвал много добър сравнителен подход за преглед на научните изследвания в разработваната от него област като е сравнявал и дискутирал накратко постиженията на различни научни групи в областта на дисертационния труд.

Към този раздел бих искал да направя и няколко бележки:

1. На стр. 24, фигура 16, както става ясно от написаното в текста на предходната страница ланинамивир е съединението **27** (а не както е отбелязано на фигурата, **28**), а 28 е неговото предлекарство, октаноиловия му естер. По мое мнение в структурата на съединение 28 е допусната грешка, тъй като естерна връзка не се наблюдава в така представената на фигурата структура, а и естерната метокси група е хидролизирана. В допълнение края на веригата откъм  $-CH_2OH$  е скъсена, като тази функция е премахната вместо да е естерифицирана.

2. Намирам определението за биоизостерите на стр. 24 за малко неточно, тъй като един заместител (атом или атомна група) не би могъл да **произвежда** биологични свойства, а то ги **придава** на дадено съединение. Освен това в продължението на определението **значителни промени**, трябва да се замени със **съществени** или **ключови**, защото е възможно определена субституция да се състои в заместването само на един атом (т.е. да не е значителна разликата в цялостната структура), но тя да е съществена от гледна точка на крайната активност или търсения ефект.

В точка I.5. докторанта много коректно и много стегнато е разгледал най-съвременните кондензиращи агенти използвани в пептидният синтез. Като бележката ми е да избягва използването на чуждици като куплунг реагенти (фиг. 42, стр. 49), правилният превод на български е кондензиращи агенти. **Във връзка с това бих искал**

**докторанта да коментира кой е по-коректният термин кондензиращи или активиращи агенти за разглежданите от него съединения и в контекста на направените от него синтези?**

От така направения задълбочен и аналитичен литературен преглед много коректно и точно в раздела **ЦЕЛ и ЗАДАЧИ** са изведени целта на дисертационния труд и отделните задачи за нейното осъществяване.

В раздела **Резултати и обсъждане** докторанта изключително стегнато, без излишни подробности е описал извършената от него работа, като добро впечатление прави големия брой аналитичен материал по отношение чистотата и достоверността на получените съединения, който не оставя никакви съмнения относно практическите резултати от разработения дисертационен труд. Чрез конвенционален синтез в разтвор са получени забележителен брой **(33)** нови съединения производни на известните в практиката противовирусни препарати ацикловир, ганцикловир, пенцикловир, оселтамивир, амантадин и римантадин. Допълнително са проведени реакции на гуанидиране на някои новополучени миметици с аминокиселини и пептиди. Всички новосинтезирани съединения са коректно доказани чрез съвременни техники, включващи ЯМР, масспектрометрия и са направени изследвания за стабилност чрез ВЕТХ. Правилното интерпретиране на получените данни показва усвояването на най-модерните техники за анализ на органични молекули от страна на докторанта, което несъмнено доказва изпълнението на образователната част от разработването на един дисертационен труд. Изключително приятно впечатление прави систематизирането и представянето на резултатите в табличен и графичен вид и това спомага за много лесното проследяване на изпълнението на поставените цели и задачи. Намирам за изключително съществено, че е намерено начин, като част от дисертационния труд, съединенията да бъдат изпитани за биологична активност спрямо различни вируси. Направена е и стабилност на аналозите показали най-висока биологична активност. Това е придало на проекто-дисертационния труд цялостен и завършен вид.

#### **Оценка на съответствието между автореферата и дисертационния труд**

Съдържанието на автореферата напълно покрива дисертационния труд, като включва Увода, Целта и поставените задачи, раздела Резултати и обсъждане, Изводите, приносите от дисертационния труд и научната активност под формата на публикации, цитати и участия в научни форуми на докторанта.

Бих обърнал внимание на докторанта както в автореферата, така и в частта със съкращения на дисертационния труд, че той претендира за ОНС «доктор» в областта на Химическите науки и по конкретно на Органичната химия и лично мое мнение е, че в този случай е могъл да покаже познаване върху номенклатурата за превод на наименованията на някои от съединенията и термините, като DCC, HPLC, EDC и др., които да бъдат представени вместо с английските си с българските наименования, както това впрочем е направено за всички останали термини и съединения.

### **Приноси от разработения дисертационен труд**

Приносите на дисертационния труд ще резюмирам накратко:

1. Чрез конвенционален синтез в разтвор са получени забележителен брой (**33**) нови съединения производни на известните в практиката противовирусни препарати ацикловир, ганцикловир, пенцикловир, оселтамивир, амантадин и римантадин. Допълнително са проведени реакции на гуанидиране на някои новополучени миметици с аминокиселини и пептиди.
2. Синтезирани са производни на ацикловир с жлъчни киселини, които спрямо Epshtain Barг вирус показват съотношение *токсичност:активност* по-висока от тази на изходното съединение ацикловир
3. Изследвана е биологичната активност на новосинтезираните аналози срещу целевите вируси, като част от съединенията показват висока инхибираща активност и висок индекс на селективност.
4. Изследвана е чрез ВЕТХ стабилността на най-активните съединения при различни условия, съгласно изискванията на практиката, като са установени важни закономерности от гледна точка на практическото им приложение.

### **Мнение за публикационната активност на докторантката**

Всички постигнати резултати са публикувани в 7 научни труда, представени към дисертационния труд, от които 2 в списания с и.ф., което покрива дори повече от необходимото изискванията на ЗРАС на РБългария и правилниците към него, с което е изпълнено и второто от изискванията на този закон, а именно научния характер на дисертационния труд. Резултатите са докладвани на 8 национални и международни научни форуми, което несъмнено показва, че докторанта е придобил уменията да синтезира, обобщи и изложи получените от него резултати на добро научно ниво. Накрая бих искал да отбележа, че въпреки, че забелязаните цитирания не са свързани с

публикация, представяща работата по настоящия проекто-дисертационен труд техният брой е забележителен, което показва, че докторанта е добре разпознаваем за международната научна общност и създава на докторанта един добър за всеки млад учен h-фактор, оценка на неговите качества като учен.

### **Лични впечатления от докторантката и заключение**

Познавам магистър Кирил Николов Чучков от съвместната ни работа с неговия научен ръководител доц. д-р Иванка Станкова. Личните ми впечатления са, че при поставянето на задачи от различно естество свързано с научната му или учебна работа той изключително задълбочено вниква в разработваната тематика и успява да я представи по достъпен и в същото време на достатъчно високо научно ниво начин. Освен, че е член на Европейското Пептидно Дружество, докторанта е активен член и на Българското Пептидно Дружество и взема винаги участия в мероприятията организирани от него. Направените забележки и отправените въпроси за изясняване, същността на работата и постигнатите от докторантката резултати, в никаква степен не намаляват общото впечатление за голяма по обем, прецизно и добросъвестна извършена и интерпретирана експериментална работа, което е доказателство за отличните теоретични познания на дисертанта по научната специалност към която е претенцията за докторката степен, както и в близки и свързани научни области. Дисертационния труд несъмнено съдържа голям брой научни и научно-приложни резултати, които намирам за изключително оригинални.

Имайки предвид, че „доктор” е образователна и научна степен, докторанта Кирил Николов Чучков напълно е изпълнила целите на обучението в тази степен като е усвоил най-съвременните техники за синтез, пречистване и анализ на органични съединения. Дисертационният труд е изработен под ръководство на доц. Станкова, която е утвърден учен в областта на пептидната химия, което несъмнено е доказателство че докторанта е получил от нея широки познания в тази област. Всички тези факти са довели до оформянето на дисертация с високо фундаментално и научно-приложно ниво, което убедено считам, че ще доведе до успешното реализиране на докторанта.

Във връзка с всичко изложено до тук убедено ще подкрепя присъждането на образователната и научна степен „доктор” по Научната специалност 4.2. Химически науки (Органична химия) на магистър Кирил Николов Чучков.

10.08.2016 г.

Рецензент:

/доц. д-р инж. Данчо Даналев/