

РЕЦЕНЗИЯ

за получаване на Образователната и научна степен „Доктор” по научна специалност 4.2
химически науки (Органична химия),

Тема на дисертационния труд: *„Синтез и анализ чрез HPLC на аналози на
противовирусни препарати”*

Автор: редовен докторант **Радослав Людмилов Чайров**

Научен ръководител: доц. д-р **Иванка Станкова**

Научен консултант: доц. д-р **Данчо Даналев**

Рецензент: **проф. дн Иванка Стойнева**, Институт по органична химия с Център по
фитохимия, БАН

1. Кратко представяне на кандидата.

Радослав Людмилов Чайров е роден 7 май 1985 г. гр. Перник. Средното си образование завършва в Езикова гимназия “акад. Людмил Стоянов”- Благоевград. В годините 2005-2009 г. получава степен „Бакалавър” в ЮЗУ Неофит Рилски, Благоевград, Природо-математически факултет, катедра Химия. Магистърската си степен придобива в периода 2010-2011 г. в същия Университет, специалност- Биологично активни вещества и лекарствени средства. От 01.02.2014. г. е зачислен като редовен докторант на ЮЗУ „Неофит Рилски”, Благоевград, Природо-математически факултет и е отчислен с на право на защита на 22.05.2017 г.

Радослав Чайров активно е участвал в редица научни мероприятия като: Международна лятна школа по Метрология в химията (Measurement science in chemistry, International summer school), Благоевград 2009 г.; участие с доклад Четвъртата международна конференция на ПМФ към ЮЗУ “Неофит Рилски” (Fourth International Scientific Conference FMNS-2011), Благоевград 2011г.; Сертификат за преминат курс по Метрология в химията (TrainMiC - Training in Metrology in Chemistry), Благоевград 2014г.; участие с постер в 33-тия Европейски пептиден

симпозиум (33rd EPS), София 2014г.; участие в 51st International Conference on medicinal chemistry, July 1-3, 2015, Avignon, Provence, France.

В периода на обучение докторантът е придобил умения за работа в екип, в подготовката и изпълнение на проекти , както и в подготовка и организиране на национални научни мероприятия с международно участие (7-ми Български пептиден симпозиум) . Радослав Чайров има богата гама от научни интереси и хобита в които проявява интерактивност, инициативност и инженерен подход при решаване на съответен проблем. Той успешно поддържа сайта на Българското пептидно дружество. Активен член е на Българското и Европейското Пептидно Дружество.

2. Актуалност на разработката тема, степен на познаване състоянието на проблема и творческа интерпретация на литературния обзор.

Представената за рецензия дисертация е написана на 141 стр. формат А4. Съдържа 7 таблици, 24 схеми и 35 фигури. Номерацията им в автореферата съответства на тази в дисертацията. Цитирани са 199 литературни източника. Много добрата информираност на кандидата по темата се вижда от литературния обзор, направен много критично, както и от използваната литература, повечето от всички литературни източници са публикувани след 2000 г. Това доказва както актуалността на разработвания проблем, така и много добрата осведоменост на автора. Литературният преглед е доста подробен , насочен е точно по тематиката и би бил полезен за следващи докторанти , но според мен е малко по-голям от необходимото.

Ефективната борбата с острите инфекциозните заболявания, причинени от вируси, бактерии, гъбички и др. и до днес е световен и актуален проблем с голямо значение, свързан с опазване на здравето на хората и подобряване на качеството на живот. Темата на дисертацията е актуална и дисертабилна

Представеният дисертационен труд на редовен докторант Радослав Чайров е естествено продължение на традиционните и дългогодишни изследвания в катедра „Химия” на ЮЗУ под ръководството на доц. Иванка Станкова, върху създаване на нови противохерпесни и противовирусни химически структури с очакван биологичен ефект. Това е една много атрактивна и важна от практическа гледна точка научна област на изследване и определя важността на избраната тема на разработения дисертационен труд.

Трудът е структуриран стандартно и съдържа увод, литературен обзор, цел и задачи, резултати и обсъждане, изводи, приноси, използвана литература и приложения, умерено балансиран като обем.

3. Оценка на получените резултати и направените изводи

Поставената цел и задачите свързани с изпълнението ѝ са формулирани ясно и точно.

Избраната стратегия от ръководителя на докторанта за реализиране на поставената цел се базира на опита който имат досега, а именно създаване на нови хибридни молекули производни на познати на пазара противовирусни средства (амантадин и римантадин) с въвеждане на различни аминокиселини.

Изборът на този подход на лекарствено планиране е много подходящ, защото се скъсява пътя от лабораторните изследвания до клиничната практика. Насочването към използването на естествени аминокиселини или техни производни като функционални групи предполага разпознаваемост от молекулярната система на организма и е предпоставка за биологична активност и ниска токсичност .

Експерименталните изследвания , които са лично дело на докторанта са му дали възможност да обогати своите знания и опит са в следните направления:

- Синтез на хибридни молекули на противовирусните средства амантадин и римантадин с природни (Phe-OH, Tyr-OH, Val-OH, Leu-OH, Ile-OH, Gly-OH, Ala-OH) и неприродни (D-Phe(4-F)-OH, L-Phe(4-F)-OH и β - Ala-OH) аминокиселини
- Модификация на аминокгрупата на амантадиновите и римантадиновите производни с Tyr-OH, Val-OH и Ala-OH с **гуанидино група с цел подобряване на техните биологични свойства.**
- Определяне и дискусия на противовирусна активност спрямо грипен вирус щам **A/H3N2**, щам **Hong Kong/68** , щам **Aichi** *in vitro* на синтезираните нови аналози на амантадин и римантадин
- Изследване на химичната стабилност на част от новите аналози на амантадин при pH 1 и pH 7.4 с BETX
- Изследване на антиоксидантната активност на 3 от синтезираните нови хибридни молекули : **фенилаланил(4-F)-амантадин, тирозинил-амантадин и фенилаланил-амантадин**

- Изследване на антипаркинсонова активност на някои от производните на амантадин;

Направен е сравнителен анализ на добивите и степента на рацемизация при ацилирането на амантадина с Woc-Phe(4-F)-OH по метода на смесените анхидриди с изобутил хлор формиат и при реакция с 2-(1H-Бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметиламин тетрафлуороборат (TBTU). Анализът показва, че няма драстична промяна на добива при двата метода, но при вторият метод се намалява степента на рацемизация и реакцията протича при много по меки условия. .

Всички новосинтезирани съединения са анализирани и доказани чрез съвременни аналитични техники като ЯМР, масспектрометрия и високоефективна течна хроматография (ВЕТХ).

4 . Оценка на приносите

В резултат на извършената експериментална работа от докторанта са синтезирани 20 нови, неописани в литературата аминокиселинни аналози на противовирусните препарати амантадин и римантадин.

При изследвана на *in vivo* (плъхове и мишки) активността на тирозинил-амантадин, е установено, че той проявява:

позитивен ефект при ригидност на мускулатурата, съпровождаща Паркинсоновата болест и улеснява процеса на хабикуация към непозната околна среда и не предизвиква явни симптоми на интоксикация ;

притежава терапевтичен индекс около 20, при възприета за ED_{50} за 320 mg/kg.

Установено е, че фенилаланил-(4-F)-амантадин и тирозинил-амантадин удължават значимо хексобарбиталния сън.

Като принос може да бъдат отчетени и регистрираните **зависимости „химичен строеж – биологична активност“**:

Установено е, че използването на **алифатни аминокиселини** като заместители в молекулата на **амантадина** не оказва влияние върху противовирусната активност.

При структурите с най-висока активност (Phe-амантадин и L-Phe(4-F)-амантадин) ароматният пръстен е граничната по обем структура, която вероятно е в състояние да проникне в M2 -йонния канал както и, че въвеждането на

електроноакцепторен заместител (L-Phe(4-F)-OH) в структурата не повлиява активността.

Използване на **алифатни и ароматни аминокиселини** като заместители в молекулата на **римантадина** не оказва съществено влияние върху противовирусната активност, както и **замяната на α - с β -аминокиселина** (α -Ala-римантадин и β -Ala-римантадин). Този резултат показва, че ограничаването на конформационната свобода на молекулата води до негативен ефект и намаляване на противовирусната активност. Единствено **глицил-римантадинът** проявява висока активност (3 пъти по-висока от тази на амантадина), съчетана с **ниска цитотоксичност**. Вероятно нейната малка по обем структура позволява лесно да влезе в M2-йонния канал и да повлияе репликацията на вируса.

Установено е, че въвеждането на **гуанидо група** в хибридните структури на аминокиселинните производни на амантадина и римантадина **не оказва влияние върху противогрипна активност**, което показва, че нарастването на обема на молекулата води до намаляване на възможността за проникване в M2-йонния канал, а от там и до намаляване на активността.

Приносите с научно-приложен характер са насочени към създаване на нови предлекарства чрез подходите на биоорганичната химия.

5. Оценка на публикациите, свързани с дисертацията

Резултатите получени при разработването на този дисертационен труд са намерили отражение в 3 научни публикации - 1 в списание с Импакт фактор- Bulgarian Chemical Communication (IF: 0.349), 1 в Chemistry: Bulgarian Journal of Science Education, SJR(2015) = 0.190 и 1 в сборник от международен научен форум.

Добро впечатление прави и активното участие на докторанта в международни и национални научни форуми- 6 на брой, на които са представени резултатите получени в този дисертационен труд. Чайров е получил награда за най-добър постер на 33-тия Европейски пептиден симпозиум .

Докторантът е взел участие и в изпълнението на 4 проекта :

- „Химични модификации на аминокиселини и невраминидазни инхибитори“ SRP A11/14
- „Гуанидино и азометинови производни на противогрипни агенти“ SRP-A19/15

- „Дизайн на нови аминокиселинни производни и техни метални комплекси с потенциална биологична активност“ RP-A9/16
- „Аминокиселинни и пептидни аналози на адамантан и АСЕ-инхибитори: синтез и биологична активност“.

Авторефератът отразява вярно, точно и пълно материалите от дисертационния труд. Всички таблици и графики отразяващи резултатите, са включени в автореферата.

6. Критични бележки

Като цяло работата е написана грамотно и прави много добро впечатление, но имам и някои дребни забележки. Например на стр. 105 изразът „добивът се претегля” би трябвало да се замени с „веществото”или „продуктът” се претегля, на места липсва пълен член като„разтворителя” като подлог и др. дребни неточности, които са неизбежни при всички хора.

Не намирам за уместно да се използва английското съкращение -HPLC за високо ефективната течна хроматография в заглавието и в текста .

Според мен качеството на дисертационния труд би се подобрило , ако е направен анализ на каква база са подбрани аминокиселините и какъв е мотива за този подбор , тъй като това не личи ясно от представения материал.

Направените критични бележки не омаловажават постигнатите резултати и приноси в този дисертационен труд.

Заклучение

Представеният дисертационен труд от редовен докторант Радослав Чайров е написан ясно и стегнато, както и приложените публикации, напълно отговарят на изискванията на Закона за Развитие на Академичния състав в Република България и Правилника за неговото приложение в ЮЗУ „Неофит Рилски”. Темата е много актуална, а получените резултати определено имат научно-приложен характер.

От представеният експериментален материал и от получените резултати, се вижда, че докторантът е придобил и много нови познания в областта на органичния синтез и умело интерпретира сложните биологични резултати. По време на

изработването на дисертацията Чайров е проявил качества като трудолюбие, прецизност и инициативност. Той е един мотивиран, знаещ и надежден млад учен.

Поради това убедено ще гласувам за присъждането на редовен докторант Радослав Чайров образователната и научна степен “Доктор” и призовавам и останалите колеги да го подкрепят.

София,

12.10.2017 г.

С Уважение:

/проф.дн Иванка Стойнева/