

РЕЦЕНЗИЯ¹

на представените трудове за участие в конкурс за академичната длъжност ПРОФЕСОР, по 4.2. Химически науки (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества - химия на лекарствените средства) обявен от ЮЗУ „Неофит Рилски“ в ДВ., бр. 97/13.11.2020 г.

Рецензент: *проф. дн Иванка Стойнева*, ИОХЦФ-БАН (асоцииран член)

Кандидат: *доц. д-р Иванка Станкова* – ръководител на катедра „Химия“
Природо-математически факултет, ЮЗУ “Неофит Рилски”

Рецензията е изготвена на основание на решение от 19.01.2021 г. на научното жури, определено със Заповед № 2656/18.12.2020 г. на Ректора на ЮЗУ "Неофит Рилски", Благоевград.

I. *Кратки биографични данни за кандидата*

Доц. д-р Иванка Станкова е завършила ВИХВП -Пловдив, “Технология на микробиологичните и ферментационни продукти” през 1982 г.

Постъпва като асистент в катедра “Химия”, ПМФ на ЮЗУ през 1995г. През 2000 г. успешно защитава **докторска** дисертация на тема “Синтез, свойства и биологична активност на аминокиселинни и пептидни производни на пиримидинови нуклеозиди” под ръководството на академик Евгени Головински. До 2010 г. заема длъжността гл. асистент , а от 2012 г. е избрана на академичната длъжност „доцент“ в катедра “Химия” на ПМФ на ЮЗУ. От 2012 г. е Ръководител на катедра “Химия“, а от 2019 г. изпълнява длъжността Заместник-ректор по научно-изследователската дейност и докторантското развитие, ЮЗУ “Неофит Рилски“.

¹ Забележка: Рецензията да бъде в обем около 6-7 стандартни страници с размер на шрифта - 14, шрифт - Times New Roman, междуредие 1,5.

Доц. Станкова е специализирала в различни университети в Германия, Университет в гр. Падерборн, Университет "Eberhard Karls" Тюбинген и Университет "Phillips", гр.Марбург.

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

За участие в конкурса доц. д-р Станкова е представила списък с 22 публикации. Разпределението на списанията, в които са публикувани научните трудове за участие в конкурса по съответните квартали (Q фактори), е както следва: Q1 - 4, Q2 - 1, Q3 - 6, Q4 - 4. 7 от публикации са в сборници от международни конференции, 1 от национална конференция с международно участие и има три подадени заявки за патент. Забелязва се висока публикационна активност в последните години и то в престижни международни издания с висок имакт фактор (Amino acids, Molecules, Sci. Pharm. и др.). Анализът на научната продукция показва, че кандидатката има съществен принос в тях. В повечето трудове доц. Станкова е или първи автор или автор за кореспонденция. Приемам всички трудове за оценка тъй като са публикувани след придобиване на академичната длъжност „доцент“ и образователната степен „доктор“.

Съгласно представеният списък са забелязани 75 цитирания в световните бази данни с научна информация (*Web of Science u Scopus*).

Научната и научно-приложната дейност на кандидатката показва една много висока активност и включва ръководство на 1 международен проект (МОН-Русия №157/27.09.2019 г.), участие в 2 международни проекта (DFG, DAAD), 4 научно/образователни, 2 национални научно- изследователски с МОН-ВУЛ и 15 вътрешно-университетски проекта.

Получените научни и приложни резултати са намерили гласност чрез доклади и постерни съобщения сред международната (32 бр.) и националната (23бр.) научна на общност.

Доц. Станкова е член на 3 национални и международни научни организации и е член е УС на Българско пептидно дружество. Участва активно в организирането на Българските пептидни симпозиуми и била председател на Организационния комитет на 7-ми Български пептиден симпозиум с международно участие през 2016 г.

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

Основните научни интереси на кандидатката и представените за рецензиране научни трудове са в областта на биоорганичната химия и са свързани със синтез на нови биомолекули с потенциална биологична активност за редица социално значими заболявания. Дизайнът на новите биомолекули се основава на химична модификация на известни лекарствени средства с противовирусна, противохерпесна и противогрипна активност.

Основните приноси се отнасят към решаване на проблеми при различните вирусни инфекции или невродегенеративни заболявания като болест на Паркинсон или Алцхаймер.

- **Приноси свързани със синтез на модифицирани биомолекули в областта на вирусните инфекции, определяне на биологичната им активност, структурен анализ и стабилност (1, 3, 12, 18).**

Осъществен е синтез на хибридни молекули с противохерпесна активност. Лекарствените препарати прилагани срещу HSV-1 и/или HSV-2 ацикловир, пенцикловир, ганцикловир са модифицирани с жлъчните киселини холева, дезоксихолева и хенодезоксихолева и с аминикиселини.

Резултатите от проведените биологични изследвания показват, че получаването на хибридни структура на ацикловир с жлъчни киселини е успешна модификация за създаване на предлекарства с повишена противовирусна активност, докато хибридите с ганцикловир и пенцикловир

не показват подобряване на техните фармакокинетични свойства. На получените нови съединения е изследвана плазмената стабилност, чрез течна хроматография, комбинирана маспектрометрична детекция. В човешка кръвна плазма най-висока стабилност проявява синтезирания ацикловир-дезоксихолат.

Осъществена е модификация на лекарството абакавир като са синтезирани три естера съдържащи аминокиселината глицин и пептидите Gly-Gly и Gly-Gly-Gly и е изследвана тяхната активност върху репликацията на HIV-1 III В в моделни МТ-4 клетки. Установено е, че Gly-абакавир показва ниска цитотоксичност и висока анти-HIV-1 активност в използваните моделни клетки (1).

- **Приноси свързани със синтез на хибридни молекули с противогрипна активност (2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 18, 19, 20).**

Амантадин (Amt) и римантадин (Rim), които се прилагат като противовирусни лекарства за лечение на грипен вирус са обект на получаване на хибридни структури с повишена биоактивност. Синтезирани са деветнадесет техни аналози с различни аминокиселини. Изследвана е тяхната противовирусна активност *in vitro* срещу грипен вирус А щам H3N2.

Най- активната хибридна молекула глицил римантадин (Rim) показва изключително висока стабилност *in vitro* в човешка кръвна плазма за 24 часа.

Чрез диференциален и гравиметричен термичен анализ е изследвана термичната му стабилност.

Определена е и кристалната структура на тази биомолекула, като е установено, че Gly-Rim кристализира в орторомбичната група Pbcа.

С ядрено-магнитен резонанс са изследвани 12 адамантанови амиди с потенциална биологична активност. Отнасянията на ^1H протонните и ^{13}C

въглеродните химични отмествания показват сходни тенденции в тяхното спектрално поведение, както и някои специфични структурни промени в случаите на ароматни заместители. Получените резултати са добра основа за бъдещи изследвания или като инструмент за създаване на базата данни за определяне на нови съединения или като отправна точка за анализ на конфигурацията и конформацията.

Получените хибридни молекули на амантадин с ароматни аминокиселини са изследвани за антиоксидантна активност чрез използване на химични системи, които генерират супероксидни анионни радикали и хидроксилни радикали, както и чрез прилагане на DPPH тест. Модификацията на амантадин с ароматни аминокиселини води до слабо повишава антиоксидантния му катацитет, но не достатъчно за да има лечебен ефект при болестта на Паркинсон.

Синтезирани са производни на амантадин и римантадин съдържащи тиазолов мотив с висок добив и са изследвани спрямо грипен щам H1N1 за противовирусна активност и антибактериална активност спрямо моделни щамове грам положителни (*Bacillus cereus*), грам отрицателни (*Escherichia coli*) микроорганизми и гъбичен щам *Yarrowia lipolytica* 3344. Аналогът на римантадин с тиазолов пръстен Gly-Thz-ремантадин проявява добра активност срещу грипния вирус A/Hongkong и много добра противогъбична активност в две различни концентрации.

- **Приноси свързани със синтез на модифицирани биомолекули в борбата с болестта на Алцхаймер. (16, 21, 22)**

В резултат на натрупан опит научните интереси на доц. Станкова в последните години са насочени към разработване на нови съединения - производни на мемантин с антимикробна активност, с потенциално приложение за лечение на бактериални и гъбични инфекции при пациенти, страдащи от болестта на Алцхаймер.

Реализиран е успешен синтез на серия от мемантинови хибридни молекули съдържащи аминокиселините Gly, Ala, β -Ala, Val, Phe, Phe (4-F), Tyr, Gly-Gly и тиазолов фрагмент. Осъществен е структурен анализ на новите съединения с ^1H NMR, ^{13}C NMR, MS и рентгенов анализ.

Изследвана е *in vitro* тяхната невропротективна активност по отношение на болестта на Алцхаймер, включваща ефектите върху устойчивостта на Ap токсичност, токсичност, оксидативен стрес, хипоксия и невровъзпаление. N-4-F-Phe-мемантин и N-Tyr-мемантин показват биологична активност сравнима с мемантин хидрохлорид и са потенциални претенденти за нов клас лекарствени средства.

Мемантинови аналози с аминокиселини проявяват инхибиторен ефект върху отделни микроорганизми. Установено е, че 4-F-Phe-мемантинът е ефективен при всички изследвани щамове микроорганизми и инхибиторният ефект е съизмерим с този на антибиотиците тетрациклин и нистатин.

Изследван е и антиоксидантният капацитет на MEM аналози като са тествани химични системи, генериращи супероксиден анион ($\bullet \text{O}_2^-$) и хидроксилни ($\bullet \text{OH}$) радикали, и чрез прилагане на DPPH теста. От изследваните съединения Phe-MEM проявява добра антиоксидантна активност и обещаващ ефект при лечение на болестта на Алцхаймер.

- **Научно-приложна дейност**

Получените научни резултати биха довели до създаването на нови лекарствени средства първият етап от което е защитата им с патенти. Подадени са 3 заявки за патенти:

Адамантаново производно с противовирусна и антипаркинсонова активност – 2018 г. Изобретението се отнася до създаване на метод за

синтез на адамантаново производно с противовирусна и антипаркинсонова активност, приложимо за превенция или лечение.

Инхибитор на вирусната невраминидаза и на M2 протонния канал – 2018 г. Изобретение се отнася до предлагането на метод за синтез на инхибитор на вирусна невраминидаза и блокер на M2 протонния канал, и приложението му за лечение на вирусни инфекции.

NMDA-рецепторен антагонист с антимикробна активност - 2020 г. Изобретението се отнася до метод за синтез на антагонист на N-метил-D-аспартат (NMDA) рецепторите с антимикробна активност, приложимо при пациенти с болестта на Алцхаймер с бактериална и гъбична инфекции.

- **Приноси в преподавателска дейност**

Доц. д-р Станкова е била научен ръководител на **2** успешно защитили докторанти и **45** дипломанти към ЮЗУ.

Тя е инициатор и създател на специалност “Медицинска химия“ в ЮЗУ. Участва в разработване на учебен план за специалност „Химия” и “Медицинска химия“ ОКС „Бакалавър”. Съавтор е в създаване и акредитиране на магистърска програма-“Биологично активни вещества и лекарствени средства”. Автор е на въвеждане на кредитната система в учебните планове на катедра “Химия” за специалност „Химия” и „Педагогика на обучението по химия и физика”.

Доц. Станкова води 9 лекционни курса на ОКС “Бакалвър и ”ОКС “Магистър” в областта на биохимията, биоорганичната химия, и химия на лекарствените средства.

Всички изброени по-горе дейности и приноси са доказателство за активна преподавателска дейност на доц. Станкова, която в момента като зам. Ректор отговаря и за докторантското развитие, ЮЗУ “Неофит Рилски“.

IV. Критични бележки и препоръки.

Нямам сериозни забележки към представените за участие в конкурса материали на доц. Станкова, освен едно предложение да бъде малко по-критична към себе си в бъдеще при представяне на официални документи.

Пожелавам на доц. Иванка Станкова успех в бъдещата ѝ работа и се надявам, че ще предаде своите знания и опит на настоящите и бъдещи млади колеги в катедрата.

V. Заключение

Анализът на представените научни трудове, научните приноси и педагогическата дейност определят доц. д-р Иванка Станкова като утвърден изследовател с последователност в търсене на нови решения на важни проблеми в медицината и образованието. Наукометричните показатели на доц. д-р Станкова отразени в представените за участие в конкурса материали, покриват изискванията за заемане на академичната длъжност „професор“, съгласно Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ).

Изброените по горе факти са основание за моята положителна оценка и препоръчвам на уважаемите членове на научното жури да подкрепят предложението за избор на доц. д-р Иванка Станкова на академичната длъжност „Професор” в професионално направление 4.2. Химически науки (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества - химия на лекарствените средства) за нуждите на катедра Химия на ПМФ на ЮЗУ „Неофит Рилски“.

Дата: 07.02.2021 г.

Рецензент:

Проф. дн Иванка Стойнева

SOUTH-WEST UNIVERSITY „NEOFIT RILSKI”

ACADEMIC REVIEW

CONCERNING: on the materials presented for the competition for the academic position of “Professor” professional field 4.2. Chemical Sciences, scientific specialty "Bioorganic chemistry, chemistry of natural and physiologically active substances - chemistry of medicines " offered from SOUTH-WEST UNIVERSITY "Neofit Rilski", announced in State gazette № 97/13.11.2020

FROM: *Prof. Ivanka B. Stoineva*, DSc, (Associate Member) at IOCCF-BAS,

PARTICIPANT: *Assoc. Prof. Dr. Ivanka G. Stankova*, Chief of the Department of “Chemistry” at Faculty of Natural Sciences and Mathematics, SWU, "Neofit Rilski"

The review was prepared on the basis of the decision from 19.01.2021 of the scientific jury, determined by Order № 2656/18.12.2020 of the Rector of SWU, "Neofit Rilski" ,Blagoevgrad.

I. Applicant's Personal Characterization

Assoc. Prof. Ivanka G. Stankova graduated from the University of Food Technologies -"Plovdiv "- "Technology of microbiological and fermentation products" in 1982.

She started as an assistant in the Department of Chemistry, Faculty of Natural Sciences and Mathematics SWU in 1995.

Assoc. Prof. Stankova received her PhD in 2000 at SWU "Neofit Rilski", Blagoevgrad, defending a dissertation on "Synthesis, properties and biological activity of amino acid and peptide derivatives of pyrimidine nucleosides" under the supervision of Academician Evgeni Golovinski. After which she was appointed as a senior assistant researcher (2000-2010) and in 2012 received the academic position of Associate Professor in the Department of Chemistry, Faculty of Natural Sciences and Mathematics SWU. In 2012 Assoc. Prof. Stankova was

appointed as Head of the Department of Chemistry. Since 2019 she has held the position of Vice-Rector for Research and Doctoral Development, SWU "Neofit Rilski".

Assoc. Prof. Dr. Stankova has specialized in various universities in Germany, University of Paderborn, University "Eberhard Karls" Tübingen, University "Phillips", Marburg.

II. Characteristics of the scientific and scientific-applied production of the candidate

Assoc. Prof. Dr. Stankova has presented a list of 22 scientific papers for participation in the competition. The distribution of the journals in which the scientific papers for participation in the competition on the respective quartiles (Q factors) are published is as follows: Q1 – 4, Q2 – 1, Q3 – 6, Q4 – 4. 7 scientific papers were published in collections from international conferences, 1 in a collection of a national conference with international participation and three filed patent applications. There has been high publishing activity in recent years in prestigious international journals with a high impact factor (Amino acids, Molecules, Sci. Pharm, etc.). The analysis of the scientific production shows that the candidate has a significant contribution in them. In most of her works, Assoc. Prof. Stankova is either the first author or the author of correspondence. I accept all papers for evaluation as they were published after acquiring the academic position of "Associate Professor" and the educational degree "Doctor".

According to the presented list, 75 citations have been noticed in the world databases with scientific information (*Web of Science and Scopus*).

The scientific and scientific-applied activity of the candidate shows a very high activity and includes management of 1 international project (MES-Russia №157 / 27.09.2019), participation in 2 international projects (DFG, DAAD), 4 scientific / educational, 2 national research projects with the Ministry of Education and Science and 15 internal University projects.

The obtained scientific and scientific-applied results were widespread through scientific reports and poster among the international (32) and national (23) scientific community.

Assoc. Prof. Stankova is a member of 3 national and international scientific organizations and is a member of the Board of the Bulgarian Peptide Society. She actively participates in the organization of the Bulgarian Peptide Symposia and was chairperson of the Organizing Committee of the 7th Bulgarian Peptide Symposium with international participation in 2016.

III. Main contributions to the scientific, scientific-applied and teaching activity of the candidate

The main scientific interests of the applicant and the scientific papers submitted for review are in the field of boorganic chemistry. They are related to the synthesis of new biomolecules with potential biological activity for a number of socially significant diseases. The design of the new biomolecules is based on chemical modification of known drugs with antiviral, antiherpes and anti-influenza activity.

The main contributions of Assoc. Prof. Stankova relate to solving problems in various viral infections or neurodegenerative diseases such as Parkinson's or Alzheimer's.

◀ **Contributions related to the synthesis of modified biomolecules in the field of viral infections, determination of their biological activity, structural analysis and stability(1, 3, 12, 18)**

The drugs against HSV-1 and / or HSV-2 acyclovir, penciclovir, ganciclovir was used for the obtained hybrid molecules with antiherpes activity . They are modified with bile acids cholic, deoxycholic and chenodeoxycholic and aminoacids.

The results of biological studies indicate that modification of acyclovir with bile acids is a successful modification to create prodrugs with increased antiviral activity, while ganciclovir and penciclovir do not show improvement in their pharmacokinetic properties. Plasma stability of the obtained new compounds was investigated by liquid chromatography, combined mass spectrometric detection. The new substance acyclovir deoxycholate is most stable in human blood plasma.

A modification of the drug abacavir was performed by synthesizing three esters containing the amino acid glycine and the peptides Gly-Gly and Gly-Gly-Gly and studying their activity on the replication of HIV-1 III B in model MT-4 cells. Gly-abacavir was found to show low cytotoxicity and high anti-HIV-1 activity in the model cells used (1).

◀ **Contributions related to the synthesis of hybrid molecules with anti-influenza activity** **активност (2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 18, 19, 20).**

Amantadine (Amt) and rimantadine (Rim), which are used as antiviral drugs for the treatment of influenza virus, are the subject of hybrid structures with increased bioactivity. Nineteen of their analogs with different amino acids have been synthesized. Their antiviral activity against influenza A strain H3N2 was studied. The most active hybrid molecule, glycyl rimantadine (Rim), showed extremely high *in vitro* stability in human blood plasma for 24 hours.

The thermal stability of the newly structures was investigated by differential and gravimetric thermal analysis.

The crystal structure of this biomolecule was also determined, and it was found that Gly-Rim crystallizes in the orthorhombic group Pbc_a.

12 adamantane amides with potential biological activity were investigated by Nuclear magnetic resonance. The assignment of ¹H proton and ¹³C carbon chemical shifts show similar trends in their spectral behavior, as well as some specific structural changes in the case of aromatic substituents. The obtained results are a good basis for future research either as a tool for creating a database

for the determination of new compounds or as a starting point for configuration and conformation analysis.

The resulting hybrid molecules of amantadine with aromatic amino acids were tested for antioxidant activity using chemical systems that generate superoxide anionic radicals and hydroxyl radicals, as well as by applying the DPPH test. Modification of amantadine with aromatic amino acids leads to a slight increase in its antioxidant capacity, but not enough to have a therapeutic effect in Parkinson's disease.

The synthesized amantadine and rimantadine derivatives containing a thiazole motif were tested against influenza strain H1N1 for antiviral activity and antibacterial activity against model strains of gram-positive (*Bacillus cereus*), gram-negative (*Escherichia coli*) microorganisms and fungal strain *Yarrowia li44*. The rimantadine analogue with the thiazole ring Gly-Thz-rimantadine shows good activity against influenza A / Hongkong virus and very good antifungal activity in two different concentrations.

◀ **Contributions related to the synthesis of modified biomolecules in the fight against Alzheimer's disease (16, 21, 22)**

As a result of accumulated experience, the research interests of Assoc. Prof. Stankova in recent years are focused on the development of new compounds - memantine derivatives with antimicrobial activity, with potential application for the treatment of bacterial and fungal infections in patients with Alzheimer's disease.

Successful synthesis of a series of memantine hybrid molecules containing Gly, Ala, β -Ala, Val, Phe, Phe (4-F), Tyr, Gly-Gly and thiazole fragment was performed. Structural analysis of the new compounds was carry out with ^1H NMR, ^{13}C NMR, MS and X-ray analysis.

Their neuroprotective activity against Alzheimer's disease was investigated *in vitro*, including the effects on resistance to A β toxicity, toxicity, oxidative

stress, hypoxia and neuroinflammation. H-4-F-Phe-memantine and H-Tyr-memantine show biological activity comparable to memantine hydrochloride and are potential contenders for a new class of drugs.

Memantine analogs with amino acids have an inhibitory effect on individual microorganisms. 4-F-Phe-memantine was found to be effective in all strains of microorganisms studied and the inhibitory effect was comparable to that of antibiotics tetracycline and nystatin.

The antioxidant capacity of MEM analogs was also studied by testing chemical systems generating superoxide anion ($\bullet O_2^-$) and hydroxyl ($\bullet OH$) radicals, and by applying the DPPH test. Of the compounds studied, Phe-MEM showed good antioxidant activity and a promising effect in the treatment of Alzheimer's disease.

• **Scientific and applied activity**

The obtained scientific results would lead to the creation of new drugs, the first stage of which is their protection with patents. 3 patent applications have been filed:

Adamantan derivative with antiviral and antiparkinsonian activity – 2018- The invention relates to the creation of a method for the synthesis of an adamantane derivative with antiviral and anti-Parkinson's activity, applicable for prevention or treatment.

Viral neuraminidase and M2 proton channel inhibitor – 2018 - Invention relates to a method for the synthesis of a viral neuraminidase inhibitor and a blocker of the M2 proton channel, and its use for the treatment of viral infections.

NMDA-receptor antagonist with antimicrobial activity – 2020 - The invention relates to a method for the synthesis of an antagonist of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors with antimicrobial activity, applicable to patients with Alzheimer's disease with bacterial and fungal infections.

• **Contributions to teaching**

Assoc. Prof. Dr. Stankova was a supervisor of **2** successfully defended doctoral dissertation and **45** diploma theses at SWU.

She is the initiator and creator of the specialty "Medical Chemistry" at SWU. Participates in the development of a curriculum for the specialty "Chemistry" and "Medical Chemistry" Bachelor's degree. She is a co-author in the creation and accreditation of a master's program - "Biologically active substances and drugs". She is the author of the introduction of the credit system in the curricula of the Department of Chemistry for the specialty "Chemistry" and "Pedagogy of Chemistry and Physics".

Assoc. Prof. Stankova give a 9 lecture courses at the Bachelor's and Master's Degrees in the field of biochemistry, bioorganic chemistry, and chemistry of medicines.

All the activities and contributions listed above are evidence of the active teaching activity of Assoc. Prof. Stankova, who is currently Deputy. Rector and also is responsible for doctoral development, SWU "Neofit Rilski".

IV. Critical remarks and recommendations.

I have no serious remarks on the materials submitted for participation in the competition by Assoc. Prof. Stankova, except for a proposal to be a little more critical in the future when presenting official documents.

I wish Assoc. Prof. Ivanka Stankova success in her future work and I hope that she will pass on her knowledge and experience to current and future young colleagues in the department.

V. Conclusion

The analysis of the presented scientific works, the scientific contributions and the teaching activity described Assoc. Prof. Dr. Ivanka Stankova as an established researcher with consistency in search of new solutions to important problems in medicine and education. The research metric indicators of Assoc. Prof. Dr. Stankova reflected in the materials submitted for participation in the

competition cover the requirements for holding the academic position of "Professor", according to the Law for development of the academic staff in the Republic of Bulgaria.

The facts listed above are the basis for my positive assessment and I recommend the esteemed members of the scientific jury to support the proposal for election of Assoc. Prof. Dr. Ivanka Stankova for the academic position "Professor" in the professional field 4.2. Chemical sciences (Bioorganic chemistry, chemistry of natural and physiologically active substances - chemistry of medicines) for the needs of the Department of Chemistry of the Faculty of Natural Sciences of SWU "Neofit Rilski.

07.02.2021

Reviewer:

Prof. Dsc Ivanka Stoineva