

РЕЦЕНЗИЯ

на представените трудове за участие в конкурс за академичната длъжност ДОЦЕНТ, по 4.2. Химически науки (Органична химия) обявен от ЮЗУ „Неофит Рилски“ в ДВ бр. 37/07.05.2021 г.

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

Кандидат: *гл. ас. д-р Мая Г. Чочкова*, катедра „Химия“ Природо-математически факултет, ЮЗУ “Неофит Рилски”

Рецензията е изготвена на основание на решение от 19.07.2021 г. на научното жури, определено със Заповед № 1450/02.07.2021 г. на Ректора на ЮЗУ "Неофит Рилски", Благоевград.

Представените документи по конкурса напълно съответстват на Правилника за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ЮЗУ "Неофит Рилски", Благоевград, както и ЗРАСРБ и ППЗРАСРБ.

Материалите са прецизно подредени, коректно и точно цитирани от кандидата по конкурса.

I. Кратки биографични данни за кандидата

Гл. ас. д-р Мая Чочкова е завършила Югозападен университет "Неофит Рилски"-Благоевград като Магистър по химия през 2000 г., след което започва работа като химик – специалист в Институт по молекулярна биология – БАН до 2002 г.

От 2002 г. до 2006 г е докторант по научната специалност 01.05.10 “Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества” под ръководството на проф. дхн Ценка Милкова. В края на 2006 г. успешно защитава дисертация на тема : “Получаване на нови производни на заместени канелени киселини с потенциална биологична активност”. В периода 2005-2008 г работи като химик специалист в Институт по молекулярна биология – БАН, а от

2008 г. до сега е Гл. ас. по органична химия в Югозападен университет "Неофит Рилски"-Благоевград.

За научното израстване на Гл. ас. д-р Мая Чочкова допринасят краткосрочни специализации по програмата CEEPUS Mobility в "Eotvos Loránd University", Budapest, Hungary през 2003 г., 2004 г. и 2005 г.. През 2005 г. и 2008 г. по същата програма специализира в "University of Technology", Institute for Analytical Chemistry, Micro- and Radiochemistry, Graz, Austria, а 2007 г. в Babeş – Bolyai University of Cluj – Napoca, Romania.

През 2019 г. е реализирана кратка специализация по програма Erasmus+ Prague Charles University in Prague, Czech Republic Staff mobility for training.

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

Гл. ас. д-р Мая Чочкова е съавтор на **48** научни публикации, като за участие в този конкурс тя е представила списък с **38**, тъй като **4** са включени в докторската ѝ дисертация. Профилът на публикациите по квартали съгласно Световните научни бази данни Web of Science и/или Scopus е както следва: **2** бр в списание с Q1; **5** бр. – Q2, **7** бр.– Q3 и **7** бр. – Q4. По показател В са посочени 5 статии (**2** с Q1, **1** с Q2 и **2** с Q3), а по показател Г - 16 статии (**4** с Q2, **3** с Q3, **5** с Q4 и **4** с SJR без IF).

Много добро впечатление прави значителният брой научни трудове в които тя е първи автор или автор за кореспонденция - **11** броя в списание с IF , **8** броя в списания с SJR без IF.

Резултатите от научните трудове на д-р Мая Чочкова за участие в конкурса са представени на **51** национални и международни форума, под формата на **44** постери и **7** устни доклада. Представена е и справка на цитиранията на научните трудове **57** броя от общия брой **175** забелязани цитати.

Гл. ас. Чочкова е взела активно участие в изпълнението на **25** национални (с ФНИ – МОН и вътрешно-университетски) и международни проекта.

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

Основните научни приноси на кандидатката в представените за рецензиране трудове са в областта на органичния синтез и са свързани със синтез на нови биомолекули с очаквана биологична активност.

С подходите на органичния и биоорганичния синтез е съществен синтезен дизайн на хибридни молекули- амиди или естери на природни или лекарствени средства с потенциално антиоксидантно, антимиembroно, антигъбично, антигрипно действие, както и инхибитори на важни ензими или средства за борба с болест на Алцхаймер.

Приноси свързани със синтез на конюгати на заместени канелени киселини с аналози на алкалоида глауцин [1,9,13,16,20].

Синтезирани са цинамоиламиди с очакван антиоксидантен ефект, което е реализирано чрез свързване на два фармакофора в една молекула.

Авторите за пръв път прилагат подход използван в пептидната химия EDC/NOBt за свързване на 3-аминометилглауцина в хибридни амиди на заместени канелени (канелена, ферулова, синапова, о- и р-кумарови) киселини. Установено е, че новите съединения показват по-висока активност в сравнение с глауцина и 3-аминометилглауцина, но по-слаб антирадикалов ефект в сравнение със съответните свободни хидроксиканелени киселини. Синапоил- и ферулоиламидите на 3-аминометилглауцина са най-активните „скавенджъри“ на DPPH• радикал.

Изследван е и антивирусният ефект на новосинтезираните глауцинови съединения срещу вируси от различни таксономични групи. Всички хидроксицинамоиламиди на глауцина показват потенциално антивирусно действие срещу репликацията на риновируса и могат да бъдат основа за развитие на антиентеровирусни агенти от този клас.

Приноси свързани със синтез на конюгати на аминокиселинни амиди на глауцин и заместени канелени киселини [10, 13, 36, 20].

Синтезирани са амиди на глауцина с *L*-аминокиселини [10], които след това образуват конюгати със заместени канелени киселини [13, 36]. Получена е серия от аминокиселини амиди на 3-аминометилглауцин и на две нови глауцинови хибриди, изградени от три свързани компонента. Изследвана е антирадикаловата активност на амидите на глауцин и на 3-аминометилглауцин и е установено, че тестваните аминокиселинни амиди на 3-аминометилглауцин, глауцинът и 3-аминометилглауцинът показват по-ниска антирадикалова активност от тези на използваните контроли. Установено е, че *N*-синапоил-фенилаланил-3-аминометилглауцинът може да се разглежда като обещаващо съединение за по-нататъшно изследване.

Приноси свързани със синтез амиди на заместени канелени киселини с ароматни и алифатни моноамини [4, 9, 11, 16, 22].

Осъществен е синтез на серия от цинамоил- и хидроксицинамоил амиди с биогенни моноамини (тирамин, триптамин, допамин и 2-фенилетиламин). Приложени са различни аналитични техники за тяхното охарактеризиране - UV, IR, ¹H- и ¹³C-NMR. Изследвана е връзката структура-антирадикаловата активност на получените съединения спрямо стабилния DPPH• радикал. Наблюдавано е, че кафеоилдопамин и кафеоилфенилетиламин са по-активни от свободната кафеена киселина, използвана като стандартен антиоксидант. Резултатите от радикалоулавящата активност (RSA) на тестваните амиди показват, че видът на аминокомпонента в 3-фенилпропеноиламидите не оказва съществено влияние върху активността. Всички амиди на хидроксиканелените киселини с фенилетиламин са най-мощните съединения, особено *N*-кафеилфенилетиламин. С изключение на кафеоиламидите, всички тествани хидроксицинамоиламиди показват по-слаба RSA от съответните свободни фенолни киселини [19, 20]. Установено е, че почти половината от синтетичните амиди са по-активни от свободните киселини срещу изследваните Грам-положителни бактериални

щамове: *Staphylococcus aureus* 209, *Streptococcus pyogenes* 10535, *Bacillus subtilis* 1A95, *Listeria monocytogenes* C12, както и срещу патогенната гъба *Candida albicans* 62 [22].

Съществен принос е прилагането на 3 различни метода: конвенционални пептидни методи (EDC/HOBt или HBTU) и два зелени метода за активиране (сонохимично (ултразуково) / микровълново) за превръщането на алифатните моноамини (*n*-хептан, *n*-хексан и *n*-бутан) в амиди на заместени канелени киселини. В колаборация с колеги от чужбина са разработени два нови метода за получаване на амиди - чрез прилагане на ултразвуково- или микровълново активирана *Wittig* реакция.

Част от получените хидроксицинамоиламиди показват умерена антирадикалова активност [4]. Само един представител - *N*-бутилцинамоиламид от новосинтезираните амиди на алифатни моноамини е активен и срещу два от изпитваните ентеровируса, другите не проявяват активност спрямо репликацията на останалите тествани вируси [11, 16].

Приноси свързани с получаване на естери на заместени канелени киселини [6] [33].

По 2 различни методики са получени неприродни и природни естери на заместени канелени киселини. DPPH[•]-улавящите свойства на новосинтезираните хидроксицинамати са сравнени със съответните хидроксицинамоил амиди с аминокарбоксилни киселини. Резултатите показват, че хидроксицинамоил амидите проявяват по-ниска антирадикалова активност от съответните свободни хидроксиканелени киселини (използвани като референти), но по-висока от тази на хидроксицинаматите [33].

Приноси свързани с получаване на хидроксицинамоил амиди с олигопептиди (MIF-1 и Tyr-MIF-1) [8].

Чрез подходите на твърдофазенния синтез са получени миметици съдържащи непротеиногенни аминокиселини: канаванин (Cav) и sLys, и синапова киселина (SA), като аналози на ендогенните неuropeптиди MIF-1 и Tyr-MIF-1:

SA-Pro-Leu-Gly-NH₂ (1); SA-Tyr-Pro-Leu-Gly-NH₂ (2); SA-Tyr-Pro-sLys-Gly-NH₂ (3); SA-Tyr-Pro-Cav-Gly-NH₂ (4); SA-Pro-Cav-Gly-NH₂ (5); Pro-Leu-Gly-Eda-SA (6); Pro-Leu-Gly-Pda-SA (7). Структурно функционалните изследвания показват, че: а) заместването на SA и Cav в MIF-1 подобрява аналгетичната активност; б) заместването на SA и Cav и sLys в Tyr-MIF-1 понижава аналгетичната активност [8].

Принос отразяващ прилагането на хибриден подход за ковалентното свързване на заместените канелени киселини с противогрипните агенти - амантадин, римантадин и оселтамивир и др.[5], [27], [29], [32], [35], [37], [38].

Осъществен е синтез на седем *N*-хидроксицинамоиламиди с противогрипни агенти и са тествани *in vitro* за противовирусна активност спрямо грипен щам A/Aichi/2/68 (H3N2). Установено е, че новосинтезираните съединения не показват инхибиране на пролиферацията на тествания вирус, но е възможно е тези съединения да се проявят активност спрямо други грипни щамове.

Проведен е скрининг спрямо друг грипен щам А (А/Н3N2) на amidното свързани защитените аминокиселинни аналози - тирозин, хистидин, аспарагинова и глутаминова киселини с противогрипните лекарства- оселтамивир, амантадин и римантадин, но не се наблюдава противогрипен ефект за тези сложни конюгати [27], [29], [32].

Интерес заслужават синтезираните конюгати с (EDC/HOBt) на *N*-адамтан-1-карбоксамиди с 1,6-диаминохексан и изследване на тяхната антибактериална активност. Резултатите показват, че *N,N'*-бис-адамтан-1-карбоксамидът на 1,6-диаминохексан е най-активен, като инхибира както тестваните Грам-положителни и Грам-отрицателните бактерии с една и съща MIC-стойност (125 µg.ml⁻¹), и проявява най-висока антимикотична активност (MIC 63 µg.ml⁻¹) спрямо *Candida albicans* [35].

Принос е и синтезът на коджилкарбамати с противогрипните агенти-амантадин, римантадин и оселтамивир и изследване на *in vitro* на тяхната антимикробиалната активност. Установено е, че коджилкарбаматът на

римантадина проявява най-висока антибактериална активност (MIC 31 ug/ml) спрямо Грам-положителните - *Staphylococcus aureus* 209 и *Bacillus subtilis* 1A95, римантадиново производно показва около четири пъти по-висока активност спрямо двата Грам-отрицателни бактериални щама *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Коджилкарбаматът на римантадина се откроява и като най-активен антимикотичен агент спрямо тестваната патогенна гъба *Candida albicans* [37].

Осъществена е химична трансформация на утвърдени химиотерапевтици, повлияващи болестта на Алцхаймер с мемантадин. Чрез EDC/HOBt метода е получена нова серия на мемантинови хибриди със заместени канелни киселини. Новополучените съединения са доказани и структурно охарактеризирани с различни методи UV, IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR и HRMS. Кристалната структура на мемантиновите хибриди е потвърдена, използвайки монокристална рентгенова дифракция. Изследвана е антирадикаловата активност на мемантиновите хибриди по отношение на DPPH \bullet радикал, хидроксилни (OH \bullet) и супероксидни анион радикали (O $_2$ \bullet^-) и сравнена със стандартните антиоксиданти (ферулова и синапова киселини). *In vitro* скрининга показва, че сред тестваните хибриди, *N*-синапоиламидът на мемантин е най-мощният антиоксидант при всички радикалоулавящи тестове. Доказано е, че мемантиновите хибриди проявяват умерено невропротективно действие, малко по-слабо в сравнение с контролата - мемантин. Тези изследвания разкриват потенциала на *N*-синапоиламидът на мемантина едновременно като радикалоулавящ и обещаващ невропротективен агент при болестта на Алцхаймер [38].

Изследвана е антирадикаловата активност на новите амиди, като *N*-кафеоил оселтамивирът е най-мощният DPPH \bullet - улавящ агент, чиято активност (91.83%) е сравнима с тази на кафеената киселина (92.65%) [5].

Приноси отразяващи получаването на хибридни структури като ензимни инхибитори, [2], [3], [5], [24], [26, 34], [36],

Чрез нова едностадийна реакция, подобна на Perkin са синтезирани 6 нови структури (4a-e-5) - *цис*-стилбени чрез взаимодействия между 6,7-

диметоксихомофталов анхидрид и ароматни алдехиди, последвано от третиране с VBr_3 . Това позволява на полихидроксилирани *цис*-стилбени да свържат два фармакофорни фрагменти с добри добиви и за кратки времена на реакция. Структурата на новосинтезираните съединения е доказана чрез спектроскопски методи (^1H NMR, ^{13}C NMR, IR и HRMS). Установено е, че в сравнение със стандартите, активността на инхибиторите на тиронизата се засилва в реда: $\text{CA} \leq 4\text{d} \leq 5 \approx 4\text{e} < 4\text{c} \leq \text{HQ} \leq \text{PCA} \approx 4\text{b} \leq 4\text{a}$. Резултатите показват, че броят и позицията на заместителите във фрагмента на канелената киселина (пръстен В) играят важна роля за инхибиторните ефекти. Получените съединения могат да се разглеждат като конкурентни инхибитори на тирозиназата.

Синтетичните производни показват тройно биологично действие - атиоксидантна, противогъбична и тирозиназно инхибиторна активност в микромолярни концентрации. Сред тестваните съединения най-обещаващото биологично активно съединение е съединение **4a**. Установено е, че съчетаването на два фармакофорни фрагмента в единна хибридна структура предизвиква синергичен ефект.

Изследвана е синтетичната серия от *N*-хидроксицинамоиламидите с противогрипни агенти за антитирозиозна активност. Сред тестваните амиди *N*-кафеоилоселтамивирът се явява най-мощният радикалоулавящ агент и инхибира $\approx 50\%$ тирозиназата, но два пъти по-слабо в сравнение със стандарта хидрохинон.

В серия от седем синтетични аминокиселинни амиди на 3-аминометилглауцин и на два хидроксицинамоил-фенилаланил-3-аминометилглауцин четири показват по-мощно трирозиозна инхибиране от това на стандартния инхибитор хидрохинон. Най-перспективен инхибитор е *N*-ферулоил-фенилаланил-3-аминометилглауцин [36].

Тестван е и ефектът на амидите на 4-хидрокси-*L*-пролин върху гъбичната тирозиназа. Установено е, че инхибиторната активност на тестваните съединения се увеличава в реда: амид на 4-хидрокси-*L*-пролин с римантадин (16.96%) < амид

на 4-хидрокси-*L*-пролин с оселтамивир (19.82%) < амид на 4-хидрокси-*L*-пролин с амантадин (24.11%) < коджикова киселина-стандарт (62.67±0.06) [27].

Интересно е изследването на серия от синтетични *trans-N*-цинамоил и хидроксицинамоил амиди като инхибитори на α -глюкозидазата. Установено е, че тестваните хидроксицинамоиламиди инхибират α -глюкозидазата със стойности на IC_{50} , вариращи между 0.13 ÷ 355.1 $\mu\text{g/ml}$. Въвеждането на втори триптофанилов остатък в амидите на кафеена/ синапова киселини води до превръщането им от неактивни в изключително активни глюкозидазни инхибитори, съответно с $IC_{50} = 0.76$ и 0.13 $\mu\text{g/ml}$. Последният амид показва около 19 пъти по-висока инхибиторна активност в сравнение с референта акарабоза ($IC_{50} = 2.50 \pm 0.21 \mu\text{g/ml}$). Канелената киселина е с най-ниската активност, докато синаповата киселина показва най-високо инхибиране ($IC_{50} = 1.17 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$). Установено е още, че хидроксицинамоиламидите, съдържащи аминокиселината пролин значително инхибират глюкозидазната активност ($IC_{50} = 1.42 \div 2.45 \mu\text{g/ml}$). Тези резултати разкриват перспектива за намирането на нови глюкозидазни инхибитори.

Приноси в преподавателска дейност

д-р Мая Чочкова води 7 лекционни курса на ОКС "Бакалвър и ОКС „Магистър“ за специалностите „Химия“ и „Медицинска химия“ в областта на органичната химия, биоорганичната химия, и химия на лекарствените средства. Участва и в разработване на учебни програми ОКС "Магистър" и ОКС "Бакалавър" за специалностите "Медицинска химия" и "Химия".

Включва се активно в разработване на общ учебен план на докторската програма по Органична химия. Научен ръководител е на магистърска програма - "Биологично активни вещества и лекарствени средства".

Адмирам смелостта на д-р Мая Чочкова да поеме риска за ръководство на докторска дисертация и да я доведе до успешна защита. Тя активно участва и като консултант на успешно защитил друг докторант, както и в ръководството на над 37 дипломни работи към ЮЗУ.

IV. Критични бележки и препоръки.

Нямам сериозни забележки към представените за участие в конкурса материали. Бих искала да отбележа, че не намерих план за бъдеща научно-изследователска работа и перспективи.

V. Заключение

Научната и преподавателската дейност, както и наукометричните показатели на гл. ас. д-р Мая Чочкова отразени в представените за участие в конкурса материали, покриват и надхвърлят изискванията за заемане на академичната длъжност „Доцент“, съгласно Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и отразяват нейното лично участие .

Постигнатите от гл. ас. д-р Мая Чочкова резултати показват, че тя е изграден учен, който може самостоятелно да решава различни научни предизвикателства в органичния синтез и намиране на приложението им в биомедицината. Научно-изследователската и преподавателската квалификация на кандидатката е несъмнена. Убедено давам моята положителна оценка и препоръчвам на уважаемите членове на научното жури да подкрепят предложението за избор на гл. ас. д-р Мая Чочкова на академичната длъжност „Доцент” в професионално направление 4.2. Химически науки (Органична химия) за нуждите на катедра Химия на ПМФ на ЮЗУ „Неофит Рилски“.

Дата: 07.09.2021 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 “Associate Professor” professional field 4.2. Chemical Sciences, scientific specialty "Organic chemistry" offered from South-West University "Neofit Rilski", announced in State gazette № 37/07.05.2021

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

PARTICIPANT: *Assist. Prof. Maya G. Chochkova PhD*, Department of “Chemistry” at Faculty of Natural Sciences and Mathematics, SWU, "Neofit Rilski"

The review was prepared on the basis of the decision from 19.07.2021 of the scientific jury, determined by Order № 1450/02.07.2021 of the Rector of SWU, "Neofit Rilski", Blagoevgrad.

The submitted documents under the competition fully comply with the Regulations for acquiring scientific degrees and holding academic positions in SWU "Neofit Rilski", Blagoevgrad, as well as ZRASRB and PPZRASRB.

The materials are precisely arranged, correctly and accurately quoted by the candidate in the competition.

I. Applicant's Personal Characterization

Assist. Prof. Maya Chochkova graduated from the SWU "Neofit Rilski" - Blagoevgrad as a Master of Chemistry in 2000, after which she began working as a chemist at the Institute of Molecular Biology - BAS until 2002.

From 2002 till 2006 she was a PhD student in the scientific specialty 01.05.10 "Bioorganic Chemistry, Chemistry of Natural and Physiologically Active Substances" under the supervision of Prof. Tsenka Milkova. At the end of 2006 she successfully defended her dissertation on the topic: “Obtaining new derivatives of substituted cinnamic acids with potential biological activity”. In the period 2005-2008 she worked as a chemist at the Institute of Molecular Biology -

BAS, and since 2008 she has been Assistant Professor of Organic Chemistry at the SWU "Neofit Rilski" - Blagoevgrad.

For the scientific growth of Assistant Professor PhD Maya Chochkova contributed short-term specializations in the CEEPUS Mobility program at the Eotvos Loránd University, Budapest, Hungary in 2003, 2004 and 2005. In 2005 and 2008 she specialized in the same program in the "University of Technology", Institute for Analytical Chemistry, Micro- and Radiochemistry, Graz, Austria, and in 2007 in Babeş - Bolyai University of Cluj - Napoca, Romania.

In 2019, a short specialization was realized under the Erasmus + Prague program at the Charles University in Prague, Czech Republic Staff mobility for training.

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

Assistant Professor Maya Chochkova is a co-author of **48** scientific papers, and for participation in this competition she has presented a list of **38** papers, as **4** of them are included in her doctoral dissertation. The profile of quartile publications according to the World Science Databases Web of Science and / or Scopus is as follows: **2** in a journal with **Q1**; **5** - **Q2**, **7** - **Q3** and **7** - **Q4**. On the indicator **B** are included **5** papers (**2** with **Q1**, **1** with **Q2** and **2** with **Q3**), and on the indicator **G** - **16** articles (**4** with **Q2**, **3** with **Q3**, **5** with **Q4** and **4** with **SJR** without IF).

A very good impression is made by the significant number of scientific papers in which she is the first author or author of correspondence - **11** pcs. in a journal with IF, and **8** pcs. in journals with SJR without IF.

The results of the scientific activity of Dr. Maya Chochkova were widespread at **51** national and international forums, in the form of **44** posters and **7** oral presentations. According to the presented list, she participate in the

competition with **57** citations, part of total **175** number noticed citations. She has taken an active part in the implementation of **25** national (with NSF - MES and – internal-SWU) and international projects.

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

In the papers submitted for review, the main scientific contributions of the candidate, are in the field of organic synthesis and are related to the synthesis of new biomolecules with expected biological activity.

With the approaches of organic and bioorganic synthesis, the synthetic design of hybrid molecules - amides or esters of natural or drugs molecules with potential antioxidant, antimicrobial, antifungal, anti-influenza action, as well as inhibitors of important enzymes or means of combating Alzheimer's disease was realized.

Contributions related to the synthesis of conjugates of substituted cinnamic acids with glaucine alkaloid analogues [1,9,13,16,20].

Cinnamoylamides with the expected antioxidant effect were synthesized by combining two pharmacophores in one molecule. The authors for the first time applied an approach used EDC / HOBt of peptide chemistry to bind 3-aminomethylglaucine to hybrid amides of substituted cinnamic (cinnamic, ferulic, sinapic, o- and p-coumaric) acids. The new compounds were found to show higher activity compared to glaucine and 3-aminomethylglaucine, but a weaker antiradical effect compared to the corresponding free hydroxycinnamic acids. The sinapoyl and feruloylamides of 3-aminomethylglaucine are the most active "scavengers" of the DPPH• radical.

The antiviral effect of newly synthesized glaucine compounds against viruses from different taxonomic groups was also studied. All glaucine hydroxycinnamoylamides show potential antiviral activity against rhinovirus

replication and may be the basis for the development of antienteroviral agents in this class.

Contributions related to the synthesis of conjugates of amino acid amides of glaucine and substituted cinnamic acids [10, 13, 36, 20].

Glaucine amides with L-amino acids were synthesized [10], which then formed conjugates with substituted cinnamic acids [13, 36]. A series of amino acids amides of 3-aminomethylglaucine and two new glaucine hybrids composed of three related components was obtained. The antiradical activity of glaucine and 3-aminomethylglaucine amides was investigated and it was found that the tested amino acid amides of 3-aminomethylglaucine, glaucine and 3-aminomethylglaucine showed lower antiradical activity than used controls. It has been found that N-sinapoyl-L-phenylalanyl-3-aminomethylglaucine can be considered as a promising compound for further investigation.

Contributions related to the synthesis of amides of substituted cinnamic acids with aromatic and aliphatic monoamines [4, 9, 11, 16, 22].

A series of cinnamoyl- and hydroxycinnamoyl amides with biogenic monoamines (tyramine, tryptamine, dopamine and 2-phenylethylamine) was synthesized. Various analytical techniques have been applied to characterize them - UV, IR, ¹H- and ¹³C-NMR. The relationship between the structure and the anti-radical activity of the obtained compounds in relation to the stable DPPH radical was investigated. Caffeoyldopamine and caffeoylphenylethylamine have been observed to be more active than the free caffeic acid used as a standard antioxidant. The results of the radical scavenging activity (RSA) of the tested amides show that the type of amino component in the 3-phenylpropenoylamides does not significantly affect the activity. All amides of hydroxycinnamic acids with phenylethylamine are the most potent compounds, especially N-caffeoylphenylethylamine. With the exception of caffeoylamides, all hydroxycinnamoylamides tested showed lower RSA than the corresponding free phenolic acids [19,20]. It was found that almost half of the synthetic amides are

more active than the free acids against the studied Gram-positive bacterial strains: *Staphylococcus aureus* 209, *Streptococcus pyogenes* 10535, *Bacillus subtilis* 1A95, *Listeria monocytogenes* C12, as well as against the pathogenic fungus *Candida albicans* 62 [22].

A significant contribution is the application of 3 different methods: conventional peptide methods (EDC / HOBt or HBTU) and two green activation methods (sonochemical (ultrasonic) / microwave) for the conversion of aliphatic monoamines (n-heptane, n-hexane and n-butane) in amides of substituted cinnamic acids. In collaboration with colleagues from abroad, two new methods have been developed for the production of amides - by applying an ultrasonically or microwave-activated *Wittig* reaction.

Some of the obtained hydroxycinnamoylamides show moderate antiradical activity [4]. Only one representative - N-butylcinnamoylamide from the newly synthesized amides of aliphatic monoamines is active against two of the tested enteroviruses, the others do not show activity against the replication of the other tested viruses [11, 16].

Contributions related to the preparation of esters of substituted cinnamic acids [6] [33].

Unnatural and natural esters of substituted cinnamic acids were obtained by 2 different methods. DPPH• -tapping properties of newly synthesized hydroxycinnamates were compared with the corresponding hydroxycinnamoyl amides with aminocarboxylic acids. *In vitro* screening showed that hydroxycinnamoyl amides showed lower antiradical activity than the corresponding free hydroxycinnamic acids (used as reference), but higher than that of hydroxycinnamates.

Contributions related to the production of hydroxycinnamoyl amides with oligopeptides (MIF-1 and Tyr-MIF-1) [8]

Through solid phase peptide synthesis approaches some mimetics containing non-proteinogenic amino acids canavanine (Cav) and sLys, and

sinapic acid (SA), were obtained as analogues of the endogenous neuropeptides MIF-1 and Tyr-MIF-1. Structural and functional studies of synthetic compounds: SA-Pro-Leu-Gly-NH₂ (1); SA-Tyr-Pro-Leu-Gly-NH₂ (2); SA-Tyr-Pro-sLys-Gly-NH₂ (3); SA-Tyr-Pro-Cav-Gly-NH₂ (4); SA-Pro-Cav-Gly-NH₂ (5); Pro-Leu-Gly-Eda-SA (6); Pro-Leu-Gly-Pda-SA (7) have shown that: a) the substitution of SA and Cav in MIF-1 improves analgesic activity; b) the substitution of SA and Cav and sLys in Tyr-MIF-1 reduces the analgesic activity [8].

Contribution reflecting the application of a hybrid approach for the covalent binding of substituted cinnamic acids with anti-influenza agents - amantadine, rimantadine and oseltamivir, etc. [5], [27], [29], [32], [35], [37], [38].

Seven N-hydroxycinnamoylamides were synthesized with anti-influenza agents and tested in vitro for antiviral activity against influenza strain A / Aichi / 2/68 (H3N2). The newly synthesized compounds have not been shown to inhibit the proliferation of the test virus, but it is possible that these compounds show activity against other influenza strains.

Screening was performed against another influenza strain A (A / H3N2) of the amide-linked protected amino acid analogues tyrosine, histidine, aspartic and glutamic acids with the anti-influenza drugs oseltamivir, amantadine and rimantadine, but no anti-influenza effect was observed for these complex [27], [29] [32].

Of interest are the synthesized hybrid molecules by (EDC / HOBt) of N-adamantane-1-carboxamides with 1,6-diaminohexane and the study of their antibacterial activity. The results show that the N, N'-bis-adamantane-1-carboxamide of 1,6-diaminohexane is the most active, inhibiting both the tested Gram-positive and Gram-negative bacteria with the same MIC value (125 µg. ml⁻¹), and showed the highest antifungal activity (MIC 63 µg.ml⁻¹) against *Candida albicans* [35].

The synthesis of kojyl carbamates with anti-influenza agents - amantadine, rimantadine and oseltamivir and in *vitro* study of their antimicrobial activity is also a significant contribution. Rimantadine kojyl carbamates was found to have the highest antibacterial activity (MIC 31 ug / ml) compared to Gram-positive - *Staphylococcus aureus* 209 and *Bacillus subtilis* 1A95, rimantadine derivative shows about four times higher activity against the two Gram-negative bacterial strains *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Rimantadine kojyl carbamates also stands out as the most active antifungal agent against the tested pathogenic fungus *Candida albicans* [37].

Chemical transformation of established chemotherapeutics affecting Alzheimer's disease with memantadine has been performed. A new series of memantine hybrids with substituted cinnamic acids was obtained by the EDC / HOBt method. The newly obtained compounds were confirmed and structurally characterized by various methods UV, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR and HRMS. The crystal structure of memantine hybrids was established using single crystal X-ray diffraction. The antiradical activity of memantine hybrids against DPPH• radical, hydroxyl (OH•) and superoxide anion radicals (O₂•⁻) was studied and compared with standard antioxidants (ferulic and cinapic acids). In vitro screening has shown that among the hybrids tested, memantine N-cinapoylamide is the most potent antioxidant in all radical scavenging tests. Memantine hybrids have been shown to have a moderate neuroprotective effect, slightly weaker than the control - memantine. These studies reveal the potential of memantine N-cinapoylamide as both as a radical scavenger and as a promising neuroprotective agent in Alzheimer's disease [38].

The antiradical activity of the new amides was studied, as N-caffeoyl oseltamivir is the most potent DPPH• - a trapping agent whose activity (91.83%) is comparable to that of caffeic acid (92.65%) [5].

Contributions reflecting the production of hybrid structures such as enzyme inhibitors, [2], [3], [5], [24], [26, 34], [36]

Through a new one-step reaction similar to Perkin, 6 new structures (4a-e - 5) - *cis*-stilbenes were synthesized by interactions between 6,7-dimethoxyhomophthalic anhydride and aromatic aldehydes, followed by treatment with BBr₃. This allows polyhydroxylated *cis*-stilbenes to bind two pharmacophore moieties with good yields and short reaction times. The structure of the newly synthesized compounds was proved by spectroscopic methods (¹H NMR, ¹³C NMR, IR and HRMS). It was found that compared to the standards, the activity of tyrosinase inhibitors is enhanced in the following order: CA≤4d≤5≈4e <4c≤HQ ≤PCA≈4b ≤4a. The results show that the number and position of substituents in the cinnamic acid fragment (ring B) play an important role in the inhibitory effects. The resulting compounds can be considered as competitive tyrosinase inhibitors.

Synthetic derivatives show a triple biological action - antioxidant, antifungal and tyrosinase inhibitory activity in micromolar concentrations. Among the compounds tested, the most promising biologically active compound is compound **4a**. It was found that the combination of two pharmacophore fragments in a single hybrid structure causes a synergistic effect.

The synthetic series of N-hydroxycinnamoylamides with anti-influenza agents for antityrosinase activity was studied. Among the amides tested, N-caffeoyl oseltamivir is the most potent radical scavenger and inhibits about 50% tyrosinase, but twice as weakly as the hydroquinone standard.

In a series of seven synthetic amino acid amides of 3-aminomethylglucine and two hydroxycinnamoyl-phenylalanyl-3-aminomethylglucine four show more potent tyrosinase inhibition than that of the standard hydroquinone inhibitor. The most promising inhibitor is N-feruloyl-phenylalanyl-3-aminomethylglucine [36].

The effect of 4-hydroxy-L-proline amides on fungal tyrosinase was also tested. The inhibitory activity of the test compounds was found to increase in the following order: 4-hydroxy-L-proline amide with rimantadine (16.96%) <4-

hydroxy-L-proline amide with oseltamivir (19.82%) <amide at 4 -hydroxy-L-proline with amantadine (24.11%) <kojic acid standard (62.67 ± 0.06) [27].

It is worth to noting the study of a series of synthetic trans-N-cinnamoyl and hydroxycinnamoyl amides as α -glucosidase inhibitors. The hydroxycinnamoylamides tested were found to inhibit α -glucosidase with IC_{50} values ranging between $0.13 \div 355.1 \mu\text{g} / \text{ml}$. The introduction of a second tryptophanyl residue into the amides of caffeic / sinapic acids results in their conversion from inactive to extremely active glucosidase inhibitors, with $IC_{50} = 0.76$ and $0.13 \mu\text{g} / \text{ml}$, respectively. The latter amide showed about 19-fold higher inhibitory activity compared to the reference acarbose ($IC_{50} = 2.50 \pm 0.21 \mu\text{g} / \text{ml}$). Cinnamic acid had the lowest activity, while sinapic acid showed the highest inhibition ($IC_{50} = 1.17 \pm 0.1 \mu\text{g} / \text{ml}$). Hydroxycinnamoylamides containing the amino acid proline were also found to significantly inhibit glucosidase activity ($IC_{50} = 1.42 \div 2.45 \mu\text{g} / \text{ml}$). The obtained results reveal possibilities for finding new glucosidase inhibitors.

Contributions to teaching

Dr. Maya Chochkova leads a 7 lecture courses of Bachelor's and Master's degrees in Chemistry and Medical Chemistry in the field of organic chemistry, bioorganic chemistry and chemistry of medicines.

She also participates in the development of curricula "Master" and "Bachelor" for the specialties "Medical Chemistry" and "Chemistry".

She is actively involved in the development of a general curriculum for the doctoral program in Organic Chemistry. He is a research supervisor of a master's program - "Biologically active substances and drugs".

I admire the courage of Dr. Maya Chochkova to take the risk as a supervisor of a doctoral dissertation and lead it to a successful defense. She actively participates as a consultant of a successfully defended other doctoral student, as well as in the management of over **37** diploma theses at SWU.

IV. Critical remarks and recommendations.

I have no serious remarks on the materials submitted for participation in the competition. I would like to note, that I did not find a plan for future research work and prospects.

V. Conclusion

The scientific and teaching activity as well as the research metric indicators of Assistant Professor Maya Chochkova PhD reflected in the materials submitted for participation in the competition, cover and exceed the requirements for holding the academic position of "Associate Professor", according to the Law on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria (RASRB).

Achieved by Assistant Professor Maya Chochkova PhD results show that she is a built scientist who can independently solve various scientific challenges in organic synthesis and finding their application in the field of biomedicine. The scientific and teaching qualification of the candidate is unquestionable. I am convinced of my positive assessment and I recommend to the esteemed members of the scientific jury to support the proposal for election of Assistant Professor Maya Chochkova PhD for the academic position "Associate Professor" in the professional field 4.2. Chemical Sciences (Organic Chemistry) for the needs of the Department of Chemistry of the Faculty of Natural Sciences of SWU "Neofit Rilski".

07.09.2021

Reviewer:

Prof. Dsc Ivanka Stoineva