

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. дхн Соня Върбанова Илиева,

Факултет по химия и фармация, СУ „Св. Кл. Охридски“
на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен

'Доктор'

професионално направление 4.2. Химически науки (Органична химия)

Автор: инж. Мария Андреева Аргирова

Тема: Синтез на 1*H*-бензимидазол-2-ил хидразони и изследване на антихелминто, антинеопластично и радикал-улавящото им действие

Научен ръководител: проф. д-р Деница Панталеева

Общо описание на представените материали

Автор на дисертационния труд е инж. Мария Андреева Аргирова – редовен докторант в лаборатория Структурен органичен анализ, ИОХЦФ, БАН, зачислена със заповед No РД-09-20/31.07.2018 с научен ръководител проф. д-р Деница Панталеева. Мария Аргирова е отчислена с право на защита на 01.08.2021 г. Докторантката е положила успешно изпити по три специализиращи дисциплини, изпит по езикова подготовка и курс по Фотошоп.

Мария Аргирова е завършила висше образование като Магистър инженер-химик, специалност Фин органичен синтез в ХТМУ, София. През 2018 г. постъпва като редовен докторант в ИОХЦФ, БАН, а от 2022 г. е асистент.

Представените от Мария Аргирова материали са в съответствие със Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и Правилника за прилагането му и отговарят на критериите за придобиване на научната и образователна степен „доктор“. Изследванията в рамките на дисертационния труд са включени в две публикации в авторитетни международни списания с импакт фактор: *RSC Advances*, IF 4.036, квартал Q1 и *Chemico-Biological Interactions*, IF 5.168, квартал Q1. Отбелязани са пет цитата върху първата публикация (*RSC Advances*, 2021). Следователно минималните критерии за научна степен Доктор са покрити и надвишени: от изискваните 30 точки по показател Г, докторантката е постигнала 50 точки.

Дисертационният труд на Мария Аргирова е посветен на синтез на нови бензимидазол-ил хидразони и техни метални комплекси и изследване на биологичната им активност в три основни направления – антихелминтно, антинеопластично и радикал-улавящо действие. Една от хипотезите, предпоставящи научните изследвания е, че наличието на повече от един фармакофор в дадена молекула може да предизвика синергизъм на биологичната активност. За доказване на новосинтезираните

съединения са използвани набор спектрални методи. Теоретични квантово-химични изчисления са приложени за изследване на структура и свойства на съединенията. Изследвана е биологичната активност на синтезираните бензимидазолил хидразони и чрез комбиниран анализ на проведените *in vitro* експерименти и молекулен докинг са направени изводи за предполагаемия механизъм на действие. Дисертационният труд (215 стр.) се състои от 3 основни части – Литературен обзор (75 стр.), Материали и методи (20 стр.), Резултати и обсъждане (80 стр.). В края на дисертацията са формулирани основните изводи и научните приноси на проведените изследвания. Изследванията, включени в дисертацията са представени с постери на десет научни форума в страната и чужбина. Мария Аргирова е участвала с доклади на 7 национални научни конференции/семинари.

Темата на дисертацията е актуална и особено интересна от научна гледна точка, т.к. е свързана с многостранно изследване свойствата и биологичната активност на ново синтезирани вещества с цел проучване на синергизъм в тяхното биологично действие. Интересен е въпросът публикувани ли са в литературата проучвания на подобен синергизъм в биологична активност на бензимидазол хидразони?

В литературния обзор е разгледана биологичната активност на 2-аминобензимидазоли като е обърнато специално внимание на влиянието на бензимидазолови производни върху полимеризацията на тубулин. Последното е свързано с една от поставените цели – да се изследват новосинтезираните бензимидазолови производни като потенциални инхибитори на полимеризацията на тубулин. В литературния обзор е представена биологичната активност на различни класове съединения главно от гледна точка на резултатите от молекулен докинг, повечето от фигурите в тази част (напр. L13-L21) представят публикувани резултати от молекулен докинг. Смятам, че основният принос на докторантката в двете представени публикации, които имат подчертан мултидисциплинарен характер, е провеждането на органичния синтез и теоретичните квантово-химични изчисления. Тези две направления не са включени в литературния обзор.

В раздел Материали и методи е представен органичния синтез на новите съединения и техни метални комплекси (рецептури, добиви, спектрални отнасяния). Представена е методологията за измерване на трите вида биологична активност (antineoplastic, antiparasitic, antioxidant and radical-trapping), както и методологията за оценяване влиянието на хидразоните върху полимеризацията на тубулина. Накратко са представени използваните теоретични методи за квантово-химични изчисления и молекулен докинг. В раздела Материали и методи (стр. 99) се посочва, че „за по-добро описание на геометрията са проведени и изчисления с функционал $M062X - SP$ calculations за пресмятане на честоти на база на геометрията, оптимизирана на $B3LYP$ “ (същото изречение се повтаря и на стр. 117).

Геометрията не се променя при SP изчисления и следователно не може да бъде описана по-добре чрез такива изчисления. Втората част от цитираното изречение е неясна. На същата страница се цитира „втората производна матрица“ – не е ясно за каква матрица става въпрос. Бих помолила докторантката за пояснение.

Научни приноси на дисертационния труд

(i) Синтезирани са 40 1Н-бензимидазол-2-ил хидразони, от които 37 нови съединения и 4 метални комплекси с Cu(II) и Fe(II), от които 2 нови, неописани в литературата.

Синтезираните бензимидазол-ил хидразони са групирани в 3 серии: серия А - с различни заместители в бензамидазоловия хетероцикъл и фенилното ядро, серия Б - с хидрокси и метокси заместители само във фенилното ядро и съединения от серия В, съдържаща хидразоните от серия Б с включен заместител метилова група в бензимидазоловия цикъл. Моля докторантката за уточнение – въз основа на какво е взето решението за включване на метилова група в бензимидазоловия цикъл?

Структурата на синтезираните хидразони е доказана чрез ИЧ и ЯМР спектроскопия. Специално внимание е обърнато на възможността за образуване на канцерогенни примеси – нитрозамини като е направен анализ на проблеми, установени при съществуващи лекарствени препарати и въпросът е отнесен към синтетичния подход, използван в дисертацията.

Отбелязване на някои от дискутираните ивици върху самите ИЧ спектри, представени на фигури би било по-ясно и в улеснение на читателя – напр. дискутираните на стр. 107 ивици за деформационно трептене на NH връзки и валентно трептене на азометинова двойна връзка (фиг. 3). Според мен, когато става въпрос, че появата на дадена ивица доказва въвеждането на дадена функционална група, с цел яснота на изложението, би трябвало да се направи сравнение между спектрите на съединенията преди и след въвеждане на функционалността. Друг подобен пример е дискусиата на ИЧ спектрите на комплексите на стр. 115 от дисертацията: ивици, дължащи се на ν_{NH} , $\nu_{\text{C=N}}$, $\nu_{\text{C=O}}$ съществуват и в спектъра на лигандите и следователно възниква въпроса как те биха могли да се използват за доказване на комплексите?

(ii) Проведени са квантово-химични изчисления чрез приложение на Теорията на функционала на плътността и разширен *triple zeta* базисен набор с цел охарактеризиране на тавтомерни и конформационни равновесия при изследваните съединения. Въз основа на изчислените Гибсови енергии са определени най-ниско енергетичните структури.

(iii) Изследвана е антитрихинелозната и антинеопластичната активност на хидразоните от групи А, Б и В и антинеопластичната активност на синтезираните метални комплекси.

Установено е, че ларвицидната биологичната активност на всички съединения превъзхожда ефекта на утвърдените лекарствени препарати (албендазол и ивермектин), използвани за сравнение. Следователно съединенията са с висок потенциал за приложение. Направен е извода, че наличието на ОН групи във фениловия остатък обуславя повишен ларвициден ефект като наличието на ОН група в трета позиция във фениловия остатък е най-съществено за антихелминтното действие.

Важно е да се отбележи, че цитотоксичната активност е изследвана върху две клетъчни линии от ракови клетки и една от нормални клетки, което е дало възможност за определяне селективност на действието. Направен е извод, че изследваните съединения проявяват значително по-ниска цитотоксичност към нормални клетки.

(iv) Изследвано е влиянието на синтезираните бензимидазоли върху полимеризацията на тубулин спектрофотометрично и чрез молекулен докинг.

(v) Радикал-улавящата способност на съединенията е изследвана експериментално и теоретично. Експерименталните резултати дават възможност за сравняване на активността с тази на референтни съединения. Чрез теоретични квантово-химични изчисления е проведено подробно и задълбочено изследване на възможните механизми на улавяне на радикали като са разгледани възможните реакционни пътища, междинни продукти, преходни състояния, енергетични бариери.

Проведените изследвания и публикуваните резултати имат **фундаментални научни приноси**, които могат да се формулират като доказване с нови средства на съществени нови страни на съществуващи научни области, проблеми, теории, хипотези и **получаване на нови факти**. Получените резултати са много добра основа за по-нататъшни изследвания на някои от ново синтезираните съединения с потенциал за практическо приложение.

Представените дисертационен труд и автореферат са написани акуратно. Бих отбелязала следната забележка: на много места в дисертацията таблици са пренесени на следваща страница, или анетката е на предишна страница, или надписът под фигурата е на следваща страница – детайли, които би трябвало да са изчистени.

Имам следните въпроси към докторантката:

1) Известно е, че наличието на 3,4,5-триметоксифенилов фрагмент в молекулната структура е от решаващо значение за повлияване полимеризацията на тубулин. Проведените изследванията и получените резултати противоречат ли на това твърдение?

2) При провеждане на квантово-химични те изчисления е приложен следния подход: оптимизация на ниво B3LYP/6-311++G(d,p) и последващи SP (single point) изчисления на ниво M062X/6-311++G(d,p). Какво подобряват SP изчисленията? Тази процедура обикновено се прилага при провеждане на MP2, MP4 изчисления, изискващи много повече процесорно време и компютърна мощност. Защо не е проведена пълна оптимизация с функционала M062X?

3) В края на литературния обзор е формулирана следната интересна задача: да се проучи дали свързването на различни фармакофори в една молекула би довело до синергизъм в биологичната активност. Какъв е отговора на този въпрос въз основа на получените резултати в рамките на дисертационния труд?

Резултатите от научните изследвания са обобщени в раздел Изводи на дисертационния труд. От изложението, от проведените научни изследвания, от направените изводи, както и от публикациите е ясно, че работата има подчертан мултидисциплинарен характер. Това се потвърждава и от съавторството в публикациите, и от колегите, с които докторантката е работила. Считам, че синтеза, спектралните изследвания и теоретичните квантово-химични изчисления, техният анализ и постигнатите резултати в голяма степен са лично дело на докторантката. Възможно е тя да е участвала и във фармакологичните изследвания, но дори да не е, фактът, че те са подробно описани и анализирани в дисертационния труд означава, че тя успешно е навлязла в тази област на научното познание. Смятам, че нейното цялостно представяне свидетелства за отлична химическа подготовка, настойчивост, последователност и целенасоченост в работата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въз основа на представените материали и научни публикации, гореизложен анализ на тяхната значимост и съдържащите се в тях научни приноси, убедено давам своята **положителна оценка** и гласувам с „да“ за присъждането на образователната и научна степен „Доктор“ на **инж. Мария Андреева Аргирова в професионално направление 4.2. Химически науки (Органична химия).**

02.03.2023

Рецензент:

/проф. Соня Илиева/