

## Рецензия

от д-р Наташа Трендафилова, професор в Институт по обща и неорганична химия при БАН

на материалите, представени за участие в конкурс за заемане на академичната длъжност (АД) „професор” в **Институт по Органична химия с Център по Фитохимия (ИОХЦФ) при БАН**, по област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.2. Химически науки, научна специалност „Органична химия“

В конкурса за академичната длъжност „професор”, обявен в брой 43 на ДВ от 31 май 2019 г. и в интернет-страница на ИОХЦФ-БАН, за нуждите на лаборатория „Структурен органичен анализ“, участва доц. д-р Деница Янчева Панталеева от ИОХЦФ-БАН.

**1. Общо представяне на получените материали.** Представеният от доц. д-р Янчева комплект материали е в съответствие с изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение, Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в БАН и ИОХЦФ и отговаря на специфичните критерии на ИОХЦФ за заемане на академичната длъжност “професор“.

Доц. д-р Деница Янчева е представила общо 80 научни труда. От тях, 9 публикации са били включени в дисертацията ѝ за ОНС „доктор“, а 32 - в конкурса за АД „доцент“ в 2015 г. Тези научни публикации няма да бъдат обект на настоящата рецензия. Приемам за рецензиране всичките останали 39 научни публикации, представени от кандидатката за участие в настоящия конкурс за АД „професор“. Тяхното описание е направено по-долу, в раздел 3 на рецензията.

**2. Кратки биографични данни.** Доц. д-р Деница Янчева Панталеева е родена на 24.01.1975 г. След периода на обучение в Химическия факултет на Софийски университет “Св. Кл. Охридски” (1994-1999 г.) тя се дипломира с квалификация Магистър по химия и специализация по Органична и аналитична химия. В периода 2000-2003 г., кандидатката е докторант в ИОХЦФ. В 2003 г., след успешна защита на дисертация на тема: “Синтез, спектрални и структурни изследвания на нови електро-оптични и фоторефрактивни материали”, ВАК присъжда на Деница Янчева ОНС „доктор“. В същата година, тя постъпва на работа като химик в ИОХЦФ, а по-късно е избрана за асистент в Лаборатория „Структурен органичен анализ“ на същия институт. В 2015 г., след успешен конкурс, тя се хабилитира и заема академичната длъжност „доцент“ в същата лаборатория, където работи и до момента.

### **3. Обща характеристика на дейността на кандидата**

*Оценка на научната дейност; научни публикации.* За участие в конкурса за АД „професор“, доц. д-р Янчева е представила 39 оригинални научни труда, които не са били включени в дисертацията ѝ за ОНС „доктор“ и в списъка за участие в конкурса за „доцент“. 31 от тях (~80%) са в списания с импакт фактор, като разпределението им по квартали на списанията, в които са публикувани, е както следва: 9 бр. (23%) - в списания от квартал 1(Q1), 4 бр. (10%) - в списания Q2, 7 бр. (18%) - в списания Q3, 11 бр. (28%) - в списания Q4. Една от публикациите е в списание без импакт фактор, но с SJR, 4 публикации са в списания без индексация, 2 публикации са в печатни издания от доклади на конгреси и 1 публикация е глава от книга.

Всички публикации са в съавторство, като разпределението им по брой автори е както следва: 3 бр. публикации са с 3 автора, 3 бр. - с 4, 7 бр. - с 5, 4 бр. - с 6, 8 бр. - със 7, 7 бр. - с 8, 2 бр. - с 9, 1 бр. - с 10, 1 бр. - с 11, 2 бр. - с 12 и 1 бр. - с 14 автора.

*Всичките научни трудове, представени за участие в конкурса, са в областта на органичната химия и описват изследвания свързани със синтеза на нови органични съединения за медицински приложения, изследване на тяхната структура, биологична активност и свързаните с нея механизми на действие, анионни и радикал-анионни интермедиати, изследване на промените във вторичната структура на протеини при модификация с йонни течности и биоактивни молекули, идентифициране и охарактеризиране на органични и неорганични материали в художествени произведения и археологични артефакти. Анализът на представените научни публикации показва, че те отговарят по брой и по качество на условията и темата на конкурса.*

Хабилитационният труд на доц. Янчева включва 8 научни публикации, от които 5 са в списания Q3, 2 са в списания Q4 и една статия е в списание без импакт фактор, но с SJR. В хабилитационния труд кандидатката няма публикации в Q1 и Q2 списания. В пет от публикациите, кандидатката е на първо място а в три е кореспондиращ автор. Така, доц. Янчева е постигнала 109 точки по група показатели „В“, отнасящи се до публикациите на хабилитационния труд, при необходим минимум от 100 точки. Останалите публикации за конкурса, включени в група показатели „Г“, са донесли на кандидатката 461 т. при необходим минимум от 250 т.: 9 бр. публикации в Q1 списания, 4 бр. - в Q2, 4 бр.- в Q3 и 8 бр.- в Q4 списания.

*Оценка на учебната дейност на кандидата.* Доц. д-р Янчева е представила данни за ръководство на 4 дипломанти и 4 специализанти. Дипломантка, работила под нейно ръководство (Мария Аргирова) е спечелила наградата "Аквахим-2019" за най-добра дипломна работа по химия в Националния конкурс, организиран от Федерацията на научно-техническите съюзи и Съюза на химиците в България. От 2018 год., доц. Янчева е ръководител на един редовен докторант в лаборатория „Структурен органичен анализ“ в ИОХЦФ.

*Представените до тук данни свидетелстват за нарастващата научна активност и компетентност на кандидатката през последните години, както и за уменията ѝ да ръководи и подготвя кадри в областта на изследванията ѝ.*

*Оригинални научни приноси.* Научните приноси на доц. д-р Янчева се изразяват в натрупването на нови, стойностни експериментални и теоретични резултати, както и в извеждането на корелации, с помощта на които са осветлени механизмите на антиоксидантно и прооксидативно действие на редица природни продукти от ванилинов тип, синтетични бензимидазолови производни, нитроароматни съединения и техни анионни и радикал-анионни интермедиати. Конкретните приноси, някои резултати и по-важни изводи от тях са представени по-долу в рамките на формулираните от кандидатката четири научни теми.

1. Комбинирано DFT и ИЧ изследване на механизмите на действие и възможните интермедиати при антиоксидантното действие на природни антиоксиданти

*В рамките на тази тема, научните приноси на кандидатката се състоят в изясняване на механизмите на антиоксидантно действие на серия природни антиоксиданти: ванилин, апоцинин [65] и сирингалдехид [52] на молекулно ниво, в полярна и неполярна среда. С изследванията по тази*

тема кандидатката е показала смисъла и значението на теоретичното моделиране, при което чрез изчисляване на теоретични физико-химични характеристики като енталпии на реакции/енергия на дисоциация на връзката, йонизационен потенциал, протонен афинитет и енталпия на електронен пренос, могат да се изследват и предсказват механизмите на действие и възможните интермедиати при антиоксидантното действие на природни антиоксиданти. Реактивоспособността на апоцинина и ванилина е оценена спрямо различни свободни радикали по три възможни механизма: директен пренос на водород (HAT), пренос на единичен електрон (SET-PT) и пренос на протон последван от електронен пренос (SPLET) в полярни и неполярни разтворители. На базата на изчисленията на DFT ниво на теорията енталпии на реакциите ( $\Delta H/BDE$ ) е предсказано, че в неполярна среда апоцининът и ванилинът реагират екзотермично с  $\bullet OH$  и алкоксилни радикали по HAT механизъм, но не реагират с пероксилни и алкилни радикали. Изчисленията са показали още, че апоцининът би могъл да обезврежда  $\bullet OH$  и алкоксилни радикали по SPLET механизъм във вода, а улавянето на  $\bullet OOH$  от апоцинин е възможно единствено по SET механизъм във вода (от  $\Delta H/IP$ ). *Доказателство за надеждността на получените резултати, както и за правилния избор на теоретичните методи и модели е фактът, че теоретично предсказаната относителна активност на апоцинин и ванилин е в съгласие с експериментални данни получени от други автори при независими изследвания.* Друг извод от теоретичните изчисления е, че SPLET механизмът е предпочетен в разтворители, улесняващи йонизацията (вода), което е провокирало кандидатката детайлно да изследва съответния оксанион на апоцинина чрез ИЧ спектроскопия и DFT методи. Способността на сирингалдехидът да обезврежда свободни радикали по HAT, SET и SPLET механизми е оценена чрез изчисленията на DFT/B3LYP/6-311++G\*\* ниво на теорията стойности на енталпия на дисоциация, йонизационен потенциал и протонен афинитет, в газова фаза, бензен, вода и DMSO. Резултатите от изчисленията в газова фаза и бензен са показали, че HAT механизмът е най-изгоден в неполярна среда. На основата на изчисленията енталпии на дисоциация (BDE) е предположено, че сирингалдехидът е по-добър антиоксидант от ванилина по HAT механизма. Тъй като сирингалдехида има по-ниска BDE стойност от тази на метанола (използван в изследването като модел на липид), е предсказано, че сирингалдехидът би могъл ефективно да предотвратява липидната пероксидация. *Принос на кандидатката е предложената теоретична оценка на относителната стабилност на радикалите на сирингалдехида и ванилина чрез разпределението на спиновата плътност, използвана като мярка за делокализацията на несдвоенния електрон по спрегнатата система.* В неполярна среда (бензен), изчисленията са показали по-малка спинова плътност върху феноксилния кислороден атом в радикала на сирингалдехида отколкото при ванилина, поради което е изказано предположението за по-голяма стабилност на радикала на сирингалдехида. *Потвърждение на този теоретичен извод е намерено в експериментално установения по-висок капацитет за улавяне на свободни радикали по HAT механизъм.* Намерено е още, че сирингалдехидът се характеризира с по-нисък йонизационен потенциал (IP) отколкото ванилина, което е в съответствие с експериментално установената за него по-голяма склонност да отдава електрон. Изчисленията IP стойности на ванилина и сирингалдехида са по-високи от тази на фенола във вода и на тази основа е предположено, че SET механизмът при двете съединения е малко вероятен. Стойностите на протонния афинитет (PA) за сирингалдехида и ванилина слабо се различават, но въз основа на изчисленията енталпии за пренос на електрон (ETE), феноксианионът на сирингалдехида притежава по-голяма склонност да отдава електрон на свободните радикали (във втората стъпка на SPLET механизма). *Като се вземе предвид и по-високата стабилност на получаващия се радикал, е изказана хипотезата, че сирингалдехидът е по-силен антиоксидант от ванилина също и по SPLET механизма.* Изследвана е способността на сирингалдехида да образува анион в разтвор на DMSO- $d_6$  [52]. С ИЧ спектроскопия е показано, че

превърщането в оксанион води до силно понижаване на валентното C=O трептене и отместване на валентното Ph-O трептене към по-високи честоти, което е съпроводено с повишаване на интензивностите на алдехидната C-H ивица и на ивиците на ароматните скелетни трептения в областта 1600-1400 cm<sup>-1</sup>. Въз основа на тези спектрални данни и теоретично изчислените структурни параметри, е направен изводът, че структурата на оксаниона показва хиноно-подобна геометрия на p-фенилното ядро.

## 2. Изследване на механизма на антиоксидантно действие на синтетични антиоксиданти

*Оригиналният научен принос в изследванията на доц. Янчева се състои в разработването и прилагането на нов подход за синтезиране на нови N,N'-дизаместени бензимидазол-2-тиони, използващ аза-присъединяване по Микаел [73]. Прилагането на изчислителни методи при интердисциплинарни изследвания като настоящите, е от съществено значение и убедително се потвърждава от факта, че най-вероятните механизми на антиоксидантно действие са предложени от кандидатката след проведените DFT изчисления. За изследване на структурата са приложени рентгеноструктурен анализ и DFT изчисления. BDE стойностите на липидите са показали, че естерните производни ефективно улавят липидни алкоксидни радикали, но не и пероксидни. Протективният ефект на бензимидазол-2-тионовите естери срещу липидната пероксидация се изразява в улавяне на реакционно способните HO•, които инициират процеса на пероксидация и формирането на алкоксидните радикали LO• при редукцията на липидните пероксиди. За хидразидните производни, DFT изчисленията са показали, че BDE стойността на amidната N-H връзка е по-ниска от тази на липидните пероксидни радикали и следователно хидразидните производни могат да улавят липидни пероксидни- и алкоксидни радикали и да инхибират директно процеса на липидна пероксидация. От теоретичните резултати е направен изводът, че от бензимидазол-2-тионите може лесно да се осъществява пренос на електрон към липидните радикали и да се образуват радикал-катиони в полярна среда. При мелатонин, електронният пренос може веднага да бъде последван от пренос на протон и да се формира междинно циклично съединение, което е неутрален радикал, способен да улавя свободни радикали (образуване на адукт) и да инхибира липидната пероксидация. Поради значителната спинова плътност върху S атома, за радикал-катиона е предположено, че е възможен още един начин за свързване на липидни радикали на това място и формиране на катионен адукт. Получените от доц. Янчева резултати са от значение при разработването на сходни съединения с потенциално приложение като инхибитори на оксидативния стрес при чернодробни заболявания. Синтезирани са серия N,N'-дизаместени бензимидазол-2-тиони като аналози на мелатонин с удължени странични вериги и са изследвани техните хепатопротективни свойства [72]. Установена е връзка структура-активност, която е използвана при следващото структурно оптимизиране: а) незаместеното бензимидазол-2-тионово ядро се е доказало като по-благоприятстващ цитопротективната активност фрагмент в сравнение с 5-заместеното; б) наличието на фенилхидразонова група с електрон-донорни заместители (метокси група) е по-благоприятно, отколкото с електрон-акцепторни заместители (флуорен атом).*

*Научни приноси на кандидатката по темата са още и ново-синтезираните 1,3-дизаместени бензимидазол-2-имино чрез използване на 5(6)-заместени-бензимидазолтиоли като прекурсори, както и получените нови данни за тяхната антиоксидантна активност. [45]. Изчислените енталпии на дисоциация на връзката предсказват, че иминобензимидазолите могат да действат като уловители на свободни радикали чрез отцепване на водороден атом от  $\alpha$ -C-атом от страничните вериги, свързани към иминобензимидазоловия пръстен. Поради по-високите BDE*

стойности за алкилиденовите групи в бензимидазолите, НАТ е изключен като възможен механизъм. Изказана е хипотеза, че поради електрон-донорните свойства, тиазолобензимидазолоните могат да претърпят поетапно окисление чрез SET и да образуват радикал-катиони, способни да улавят липидни алкоксилни ( $LO\cdot$ ), липидни пероксилни ( $LOO\cdot$ ) или хидроксилни ( $\cdot OH$ ) радикали и тогава да образуват междинен адукт и да прекратят процеса чрез пренос на протон.

В рамките на тази научна тема, чрез експериментални и DFT методи кандидатката е изследвала структурата и радикал-улавящата активност на друга група съединения, изоксазоло- и тиазолохидразинилхроман-2,4-диони [61]. От изследванията на способността за улавяне на  $NO\cdot$  радикала, супероксидни анион-радикали ( $O_2\cdot^-$ ) и DPPH $\cdot$  е установена значително по-висока активност на съединенията с тиазолидинов пръстен в сравнение с кумарините с изоксазолидинов пръстен. Според теоретично изчислените енталпии на съединенията притежаващи тиазолидинов пръстен, SET механизмът се конкурира с НАТ във водна среда. По този причина по-високата активност на тази група съединения е обяснена със способността им да обезвреждат свободните радикали в полярна среда едновременно по НАТ и SET механизмите.

### 3. Изследване на прооксидантната активност на нитроароматни съединения

Оригинални научни приноси на доц. Янчева се откриват в изчерпателните изследвания за хепатотоксичност на  $N,N'$ -дизаместените бензимидазол-2-тиони, при които, производните на 5-нитробензимидазола са показали много висок токсикологичен потенциал. [72,73]. Изследвана е възможността за формиране на нитро радикал анион на естера на 5-нитробензимидазола чрез електрохимично генериране и ИЧ изследване в разтвор на DMSO [64]. Спектроскопски (ИЧ) изследвания и DFT изчисления са показали, че формирането на радикал анион води до повишаване на вибрационната честота на C-NO<sub>2</sub> връзката, като резултат от нейното скъсяване и увеличаване на порядъка  $\nu$ , както и понижаване на вибрационната честота на N-O връзките в резултат на тяхното удължаване. От получените данни кандидатката е формулирала следните важни зависимости: 1) неутралното съединение и радикал анионът имат копланарна ориентация на нитро групата спрямо ароматната система, което може да е причина за наблюдаваната токсичност; 2) удължената спрегната електронна система има спинова плътност, локализирана предимно върху нитро групата на радикал аниона; 3) радикал анионът има удължена спрегната система спрямо неутралната молекула; 4) присъствието на тионна група и N-алкилни вериги в бензимидазоловия пръстен допринася благоприятно за намаляване на тенденцията за образуване на нитро радикал аниони. Чрез изчислените НОМО и LUMO енергии, адиабатните електронни афинитети и енергетичната разлика между радикал аниона и неутралната молекула, и сравнението с тези на други нитроарилни съединения, е установено, че склонността към биоредукция на нитро групата на изследваните нитробензимидазоли в биологичните системи е сравнима с тази на нитробензен и нимезулид и е много по-ниска от тази на нитрофурантоин.

Приноси на кандидатката още са и новите данни получени при изучаването на електрохимичното превръщане на две нитроароматни лекарства, свързани с хепатотоксичност: нитрофурантоин [51] и нимезулид (аулин) [62]. Изследването е проведено в разтвор на DMSO-d<sub>6</sub> и промените, произтичащи от превръщането са регистрирани чрез ИЧ-спектроскопия. Локализацията на несдвоен електрон при нитро групата логично е приета като основателна причина за високата реактивоспособност на образувания радикал-анион на нитрофурантоина и способността за образуване на ROS чрез отдаване на електрон. На базата на теоретично предсказаните спектри на възможните продукти на редукцията при превръщането на нимезулид, е направено

заклучението, че при тези условия електрохимичната редукция на нимезулид води до формиране на радикал дианион [62].

4. Синтез, биологична активност и връзка структура-активност на дидепсипептидни, бензимидазолони, тиенопиримидинови и 2-амино-5-алкилидентиазол-4-онови производни

Научните приноси на кандидатката по тази тема се състоят в получаването на нови съединения и натрупването на нови данни за тях чрез ИЧ и ЯМР спектроскопски техники. Анализът на спектроскопските данни е подкрепен от детайлен теоретичен анализ на геометричната и електронната структура на молекулите. Спектроскопските и теоретичните данни са корелирани с резултати от биологични изследвания за антибактериална, противоракова, антипаразитна, инхибираща активност на ксантиноксидазата и ДНаза I. Чрез изчислителни методи са изучени структурните характеристики, които влияят върху биологичната активност и взаимодействието с различни биологични мишени. Получена е полезна информация за връзката структура-активност. Данни за синтеза, биологичната активност и структурното охарактеризиране на дидепсипептидните производни са подробно обсъдени в публикации [44, 48, 46, 57, 68]. Тавтомерията и изомерията на различни групи бензимидазоли, изследването на инхибиращата активност спрямо ДНаза I и начините на взаимодействие с ензима са обект на публикации [67, 75]. Публикациите [77, 55, 76] представят изследванията върху антихелминтната и противоракова активност на тиено[2,3-d]пиримидин-4-они и инхибиращата активност спрямо ДНаза I, заедно с изясняване на структурните особености, влияещи на активността и възможните механизми на действие чрез взаимодействие с биологични мишени. Ксантиноксидазните инхибиращи свойства и противовъзпалителната активност на 2-амино-5-алкилидентиазол-4-они са представени в публикация [47].

Описаните до тук изследвания на доц. д-р Янчева са довели до натрупването на голям брой нови интересни експериментални и теоретични резултати за молекулните характеристики и биологичното действие на серия нови съединения. Получените данни и изводи от тях са добра основа за бъдещо развитие на изследванията ѝ. Установените корелации структура-активност имат фундаментален характер и могат да се използват при дизайна на нови производни с подобрени фармакологични свойства и по-ниска токсичност. Доц. д-р Янчева има ясна визия и план относно перспективите за развитие на изследванията ѝ в следните направления: 1) Дизайн, синтез, структурно охарактеризиране и изучаване на механизмите на биологично действие на нови бензимидазолони производни; 2) ИЧ изследване на вторичната структура на протеини; 3) Спектроскопски изследвания на материали от културното наследство.

Интердисциплинарните и широкоспектърните изследвания на доц. Янчева са намерили отзвук в международната литература. Общият брой забелязани цитати върху публикациите ѝ е 152, всичките в списания, индексирани в световните бази данни, което доказва международния интерес към получените от кандидатката резултати. С този брой цитати (304 т.) тя изпълнява минималните изисквания по Показател „Д“ от 200 т. 64 от цитатите са на публикации включени в дисертацията за ОНС „доктор“ и представените в конкурса за „доцент“. Останалите 88 цитати са на публикации, представени за участие в настоящия конкурс за „професор“. Индексът на Хири ( $h$ ) върху всички публикации на доц. Янчева, според Scopus, е 11, което удовлетворява изискванията на Правилника на ИОХЦФ за  $h \geq 10$ . Научната дейност на доц. Янчева включва 14 участия в национални проекти, 3 участия в международни проекти и ръководство на 3 национални проекти. Резултатите от нейните научни изследвания са представяни многократно на наши и международни научни форуми с 26 постера и 2 доклада на международни форуми и 9 постера на национални с

международно участие. Две от постерните представяния (в 2017 г. в Пирот, Сърбия и в 2018 г. във Варна, България) са получили наградата за най-добър постер.

**4. Заключение.** В конкурса за заемане на АД „професор“, доц. д-р Деница Янчева е представила достатъчен брой научни трудове, публикувани след защитата на ОНС „доктор“ и заемането на АД „доцент“. Постигнатите от кандидатката резултати в научно-изследователската дейност, напълно съответстват на специфичните изисквания на Правилника на ИОХЦФ-БАН за приложение на ЗРАСРБ. В изследванията на кандидатката има оригинални научни приноси, които са получили международно признание. Проведените теоретични и експериментални изследвания и получените от тях резултати имат практическа приложимост. Доц. д-р Янчева притежава безспорна научна квалификация и потенциал за провеждане и ръководене на стойностни научни изследвания в бъдеще. След запознаване с представените в конкурса материали и научни трудове, анализа на тяхната значимост и съдържащите се в тях научни и научно-приложни приноси, намирам за основателно да дам своята положителна оценка като гласувам с „да“, и убедено препоръчам на Научното жури да изготви доклад-предложение до Научния съвет на ИОХЦФ-БАН за избор на доц. д-р Деница Янчева на академичната длъжност „професор“ в ИОХЦФ-БАН по Професионално направление 4.2. Химически науки, научна специалност „Органична химия“.

09.09.2019 г.

Рецензент:

(проф. д-р Наташа Трендафилова)

## Review

by Dr. Natasha Trendafilova, Professor at the Institute of General and Inorganic Chemistry at the Bulgarian Academy of Sciences

of the materials submitted for participation in the competition for the occupation of the academic position (AP) "Professor" **at the Institute of Organic Chemistry with Center of Phytochemistry (IOCCP)** at BAS, in the field of higher education 4. Natural sciences, mathematics and informatics, professional field 4.2. Chemical Sciences, specialty "Organic Chemistry"

**Assoc. Prof. Dr. Denitsa Yancheva Pantaleeva** is the only candidate in the competition for the academic position "Professor", announced in issue 43 of the State Gazette of May 31, 2019 and on the website of IOCCP-BAS, for the needs of the "Structural Organic Analysis" Laboratory at IOCCP-BAS.

**1. General presentation of the received materials.** The set of materials, presented by Assoc. Prof. Dr. Yancheva, is in accordance with the requirements of the Law on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the Regulations for its implementation, the Rules for the conditions and the order for acquiring scientific degrees and for occupying academic positions in BAS and IOCCP and meets the specific criteria of IOCCP to occupy the academic position "Professor".

Assoc. Prof. Denitsa Yancheva has presented a total of 80 scientific papers, of which, 9 publications were included in her PhD thesis and 32 in the "Associate Professor" competition in 2015. These scientific publications will not be a subject of this review. I accept for review all the other 39 scientific publications submitted by the applicant for participation in this competition for AP "Professor". Their description is made below in section 3 of the review.

**2. Brief biographical information.** Assoc. Prof. Dr. Denitsa Yancheva Pantaleeva was born on 24.01.1975. After the period of study at the Faculty of Chemistry of Sofia University (1994-1999) she graduated with a Master's degree in Chemistry and a specialization in Organic and Analytical Chemistry. In the period 2000-2003, the candidate is a PhD student at IOCCP. In 2003, after successfully defending a thesis on the topic: "Synthesis, spectral and structural studies of new electro-optical and photorefractive materials", the High Testimonial Commission awarded Denitsa Yancheva with the scientific degree "Doctor". In the same year, she went to work as a chemist at IOCCP and later was elected as an assistant at the "Structural Organic Analysis" Laboratory of the same institute. In 2015, after a successful competition, she was habilitated and held the academic position of Associate Professor in the same laboratory, where she has worked so far.

**3. General characteristics of the applicant's activities.** *Evaluation of scientific activity; scientific publications.* For participation in the competition for AP "Professor", Assoc. Prof. Dr. Yancheva presented 39 original scientific papers. 31 of them (~ 80%) are in impacted journals, and their distribution by quartile of the journals is as follows: 9 publications (23%) - in journals



from quartile 1 (Q1), 4 publications (10%) - in Q2 journals, 7 publications (18%) - in Q3 journals, 11 publications (28%) - in Q4 journals. One of the publications is in a non-impact factor journal, but with SJR, 4 publications are in non-indexed journals, 2 publications are in conference reports and 1 publication is a book chapter. All publications are co-authored and their distribution by authors is as follows: 3 publications are with 3 authors, 3 - with 4, 7 - with 5, 4 - with 6, 8 - with 7, 7 - with 8, 2 - with 9, 1 - with 10, 1 - with 11, 2 - with 12, and 1 is with 14 authors.

*All scientific papers presented in the competition are in the field of organic chemistry and describe studies on the synthesis of new organic compounds for medicinal applications, investigations of their structure, biological activities, mechanisms of action, relevant anion and radical anion intermediates, elucidation of protein secondary structure upon modification with ionic liquids and bioactive molecules, identification and characterization of organic and inorganic materials in art objects and archaeological artefacts.*

The habilitation work of Assoc. Prof. Dr. Yancheva includes 8 scientific publications, 5 of which are in Q3 journals, 2 are in Q4 journals and one article is in a non-impact factor journal, but with SJR. The candidate has no publications in Q1 and Q2 journals in the habilitation work. In five of the publications, the candidate is the first author and in three - she is the corresponding author. Thus, Assoc. Prof. Yancheva achieved 109 points in the group of indicators "B", referring to the publications of the habilitation work, with a minimum of 100 points required. The other publications for the competition, included in the group of indicators "D", brought to the candidate 461 points with a minimum of 250 points required: 9 publications are in Q1 journals, 4 - in Q2, 4 in Q3 and 8 in Q4 journals.

*Assessment of educational activity of the applicant.* Assoc. Prof. Yancheva presented data for the supervision of 4 graduates and 4 postgraduate students. A graduate student working under her supervision (Maria Argirova) has won the "Aquachim-2019" Award for Best Diploma in Chemistry at the National Competition, organized by the Federation of Scientific and Technical Unions and the Union of Chemists in Bulgaria. Since 2018, Assoc. Prof. Yancheva is the supervisor of a PhD student in the "Structural Organic Analysis" Laboratory at IOCCP.

*The data presented so far show the increasing scientific activity and competence of the candidate in recent years, as well as her ability to supervise and train staff in her field of research.*

*Original scientific contributions.* The original scientific contributions of Assoc. Prof. Dr. Yancheva consist in accumulation of new, valuable experimental and theoretical results, as well as in the derivation of correlations by which the mechanisms of antioxidant action of a number of natural vanillin-type products, synthetic benzimidazole derivatives, nitro aromatic compounds and their anionic and radical anionic intermediates have been clarified. The specific contributions, some results and more important conclusions from them are presented below within the framework of the four scientific topics formulated by the candidate.

1. Combined DFT and IR study of the mechanisms of action and possible intermediates in the antioxidant action of natural antioxidants

Within this theme, the candidate's scientific contributions consist in elucidating the mechanisms of antioxidant action of a series of natural antioxidants: vanillin, apocynin [65] and syringaldehyde [52] at molecular level, in polar and non-polar environments. Performing research on this topic, the candidate has demonstrated the meaning and the importance of the theoretical modeling, whereby by calculating theoretical physicochemical characteristics such as enthalpy of reactions/bond dissociation enthalpy, ionization potential, proton affinity and electron transfer enthalpy, the mechanisms of action and possible intermediates of the antioxidants can be investigated and predicted. The reactivity of apocynin and vanillin was evaluated against various free radicals via three possible mechanisms: direct hydrogen transfer (HAT), single electron transfer (SET-PT), and proton transfer followed by electron transfer (SPLET) in polar and nonpolar solvents. Based on the DFT-calculated enthalpy of reaction ( $\Delta H/BDE$ ), it has been predicted that in non-polar environment, apocynin and vanillin react exothermically with  $\bullet OH$  and alkoxy radicals via the HAT mechanism but do not react with peroxy and alkyl radicals. The calculations also showed that apocynin could scavenge  $\bullet OH$  and alkoxy radicals via the SPLET mechanism in water, and the scavenging of  $\bullet OOH$  by apocynin is only possible via the SET mechanism in water (according calc.  $\Delta H/IP$ ). *Proof of the reliability of the results obtained, as well as of the correct choice of theoretical methods and models, is the fact that the theoretically predicted relative activity of apocynin and vanillin is in agreement with experimental data obtained by other authors in independent studies.* Another theoretical conclusion made by the candidate is that the SPLET mechanism is preferred in ionization supporting solvents as water, and this finding provoked the candidate to examine in detail the relevant oxyanion of apocynin by IR spectroscopy and DFT methods. Syringaldehyde's ability to scavenge free radicals by HAT, SET, and SPLET mechanisms has been evaluated by DFT/B3LYP/6-311++G\*\* calculations of the bond dissociation enthalpy, ionization potential and proton affinity in gas phase, benzene, water and DMSO. The results from the gas phase and benzene calculations have shown that the HAT mechanism is the most favorable one in a non-polar environment. Based on the calculated bond dissociation enthalpy (BDE), it was suggested that syringaldehyde is a better radical scavenger than vanillin via the HAT mechanism. As syringaldehyde has a lower BDE than methanol (used in the study as a model lipid radical) it has been predicted that syringaldehyde should effectively prevent the lipid peroxidation. *The candidate's contribution is the proposed theoretical evaluation of the relative stability of the syringaldehyde and vanillin radicals by the spin density distribution used as a measure of the odd electron delocalization through the conjugated system.* In a non-polar environment (benzene) the calculations showed a smaller spin density at the phenoxyl oxygen atom in the syringaldehyde thus suggesting higher stability of the syringaldehyde radical. *Confirmation of this theoretical conclusion was found in the experimentally established higher radical scavenging capacity by the HAT mechanism.* Syringaldehyde has also been found to have a lower ionization potential (IP) than vanillin, which is consistent with the experimentally found higher ability to donate an electron. The calculated IP values of vanillin and syringaldehyde are higher than those of phenol in water and on this basis it was suggested that the SET mechanism in both compounds is unlikely. The proton affinity (PA) values for syringaldehyde and vanillin differ slightly, but based on the calculated electron transfer enthalpy (ETE), the syringaldehyde phenoxy anion is more prone to donate its electron to the free radical (in the second step of the

SPLET mechanism). *Considering the higher stability of the resulting radical it has been predicted that syringaldehyde should be more potent radical scavenger via SPLET mechanism.* The ability of syringaldehyde to form an anion in DMSO-d<sub>6</sub> solution has been also investigated [52]. IR spectroscopy has shown that conversion into oxyanion results in a strong decrease in the stretching C=O frequency and into shift of the stretching Ph-O frequency to higher frequencies, which is accompanied by an intensity increase of the C-H and aromatic skeletal bonds frequencies in the range 1600-1400 cm<sup>-1</sup>. *On the basis of these spectral data and on the theoretically calculated structural parameters, it was concluded that the structure of the oxyanion shows a quinone-like geometry of the para-phenylene ring.*

## 2. Investigation of the mechanism of antioxidant action of synthetic antioxidants

*The original scientific contributions of Assoc. Prof. Yancheva to this topic consists in the development and implementation of a new approach for the synthesis of new N, N'-disubstituted benzimidazole-2-thiones using novel synthetic method of aza-Mikael addition [73]. The application of computational methods in interdisciplinary studies such as the present, is essential and is convincingly confirmed by the fact that the most likely mechanisms of antioxidant action are suggested by the candidate after the performed DFT calculations.* X-ray analysis and DFT calculations were applied to study the structure. BDE lipid values have shown that the ester derivatives would be an efficient radical scavenger of lipid alkoxy radicals but not of peroxy radicals. The protective effect of benzimidazole-2-thione esters against lipid peroxidation should be exerted by scavenging the highly reactive HO•, which initiates the degradation process and formation of alkoxy radicals LO• by the reduction of lipid peroxides. In the case of hydrazide derivatives, DFT calculations have shown that the BDE value of the amide N-H bond is lower than that of the lipid peroxide radicals and therefore the hydrazide derivatives should be able to trap lipid peroxy and alkoxy radicals, and inhibit directly the lipid peroxidation process. It is concluded that from the benzimidazole-2-ions, electron transfer to the lipid radicals can easily be carried out and radical cations can be formed in a polar environment. In melatonin, the electron transfer can be immediately followed by proton transfer and an intermediate cyclic compound is formed, which is a neutral radical able to scavenge free radicals (adduct formation) and inhibiting lipid peroxidation. Due to the substantial spin density over the S atom in the radical cation, it has been suggested that another way to bind lipid radicals is possible at this site forming a cationic adduct. *The results obtained by Assoc. Prof. Yancheva are of importance in the development of similar compounds with potential applications as inhibitors of oxidative stress in liver diseases. N, N'-disubstituted benzimidazole-2-thione series have been synthesized as melatonin analogues with extended side chains and their hepatoprotective and antioxidant properties have been studied [72]. A structure-activity relationship has been established, which is used in the next structural optimization, namely: a) the unsubstituted benzimidazole-2-thione core has proven to be more beneficial than 5-substituted core for cytoprotective activity; b) the presence of phenyl hydrazine moiety with electron donating substituent (methoxy group) is more favorable than phenyl hydrazine moiety with electron withdrawing substituent (fluorine atom).*

*The scientific contributions of the candidate to this topic include further a big amount new data on the antioxidant activity of newly synthesized 1,3-disubstituted benzimidazol-2-imines, using*

*5(6)-substituted-benzimidazolethiols as precursors. [45]. The calculated bond dissociation enthalpy predicts that iminobenzimidazoles can act as radical scavengers via hydrogen atom abstraction preferably in the  $\alpha$ -C-atom of the side chains attached to the iminobenzimidazole rings. Due to the higher BDE values obtained for the alkylidene groups in the benzimidazoles, HAT was ruled out as a possible mechanism of action. It has been suggested that due to their electron-donating properties, thiazolobenzimidazolones might undergo a stepwise oxidation via SET and form radical cations capable to scavenge the lipid alkoxyl (LO•), lipid peroxy (LOO•) or hydroxyl (•OH) radicals and then to form an intermediate adduct and terminate the process by proton transfer.*

*Within this scientific topic, the candidate investigated the structure and radical-scavenging activity of another group of compounds, isoxazolo- and thiazolo-hydrazinylidene-chroman-2,4-dione, by experimental and DFT methods [61]. The estimation of the scavenging capacities of the studied molecules towards nitric oxide (NO•), superoxide anion radical (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) and DPPH• radicals revealed remarkably higher activity of the compounds possessing a thiazolidine ring in the test with nitric oxide (NO•) than the coumarins with isoxazolidine ring. According to the theoretically calculated enthalpies for the compounds having a thiazolidine ring, the SET mechanism would be competitive to the HAT in aqueous medium. Therefore, the superior activity of this group of compounds was explained by their capacity to deactivate free radicals simultaneously by two mechanisms (HAT and SET) in polar medium.*

### 3. Investigation of the prooxidant activity of nitroaromatic compounds

*Original contributions are found in the comprehensive studies of Assoc. Prof. Yancheva on the hepatotoxicity of N, N'-disubstituted benzimidazole-2-thione, in which the 5-nitrobenzimidazole derivatives have shown very high toxicological potential. [72,73]. The feasibility of a nitro radical anion formation from the ester 5-nitrobenzimidazole derivative has been investigated through electrochemical generation and IR measurements in DMSO solution [64]. Spectroscopic (IR) studies and DFT calculations have shown that conversion into a radical anion leads to an increase in the vibrational frequency of the C-NO<sub>2</sub> bond as a result of its shortening and increase in its bond order, as well as a decrease in the vibrational frequency of the NO bonds as a result of their lengthening. The following important correlations are drawn from the data obtained: 1) the neutral compound and the radical anion have a coplanar orientation of the nitro group with respect to the aromatic system, which may be the reason for the observed toxicity; 2) the elongated conjugated electronic system has a spin density predominantly localized over the nitro group of the radical anion; 3) the radical anion shows an extended electron conjugation with respect to the neutral molecule; 4) the presence of a thionic group and N-alkyl chains in the benzimidazole ring contributes favorably to reducing the tendency for formation of nitro radical anions. By calculating the HOMO and LUMO energies, the adiabatic electron affinities, the energy difference between the radical anion and the neutral molecule, as well as by comparison with those values of other nitroaryl compounds, it was found that the inclination for bio-reduction of the nitro group in the studied nitrobenzimidazole in biological systems should be comparable to that of nitrobenzene and nimesulide and much lower than those of nitrofurantoin.*

*Another contribution of the candidate to this topic is the study of the electrochemical conversion of two nitro aromatic drugs related to hepatotoxicity: nitrofurantoin [51] and nimesulide (aulin) [62]. The study was performed in DMSO-d<sub>6</sub> solution and the changes resulting from the conversion were recorded by IR spectroscopy. The substantial odd electron localization in the nitro group indicated high reactivity of the formed nitrofurantoin radical anion and strong ability to initiate production of various ROS via electron donation. Based on the theoretically predicted spectra of possible reduction products upon the conversion of nimesulide, it is concluded that under these conditions the electrochemical reduction of nimesulide leads to the formation of a radical dianion [62].*

4. Synthesis, biological activity and structure-activity relationship studies on didepsipeptide, benzimidazole, thienopyrimidine and 2-amino-5-alkylidenethiazol-4-one derivatives

*The scientific contributions of the candidate to this topic consist in the production of new compounds and the accumulation of new data on them by IR and NMR spectroscopic techniques. The analysis of the spectroscopic data is supported by a detailed theoretical analysis of the geometric and electronic structure of the molecules. Spectroscopic and theoretical data are correlated with the results of biological studies on antibacterial, anticancer, antiparasitic and inhibitory activity of xanthine oxidase and DNase I. Structural characteristics that influence biological activity and interaction with various biological targets have been studied by computational methods. Useful information about the structure-activity correlation has been obtained. Data on the synthesis, biological activity and structural characterization of the didepsipeptide derivatives have been discussed in detail in publications [44, 48, 46, 57, 68]. The tautomerism and isomerism of different benzimidazole groups, the study of DNase I inhibitory activity and the modes of interaction with the enzyme have been the subject of publication [67, 75]. Publications [77, 55, 76] presented studies on the antihelminthic and anticancer activity of thieno [2,3-d] pyrimidin-4-ones and inhibitory activity towards DNase I, along with elucidation of structural features influencing the activity and possible mechanisms of action through interaction with biological targets. The xanthine oxidase inhibitory properties and the anti-inflammatory activity of 2-amino-5-alkylidenethiazol-4-ones have been published in [47].*

*The studies performed by Assoc. Prof. Dr. Yancheva have led to the accumulation of a big amount of interesting experimental and theoretical results on the molecular characteristics and biological action of series of new compounds. The data obtained and the conclusions drawn are a good basis for the future development of her research. The established structure-activity correlations are fundamental and can be used in the design of new derivatives with improved pharmacological properties and lower toxicity. Assoc. Prof. Dr. Yancheva has a clear vision and plan about the perspectives for continuation of her research in the following directions: 1) Design, synthesis, structural characterization and study of the mechanisms of biological action of new benzimidazole derivatives; 2) IR studies on the protein secondary structure; 3) Spectroscopic studies of cultural heritage materials.*

The interdisciplinary and wide-ranging studies of Assoc. Prof. Yancheva have been seen and estimated in the international literature. The total number of citations on her publications is 152, all in journals indexed in the worldwide databases, proving the international interest in the results

obtained by the candidate. With this number of citations (304 points), she fulfills the minimum requirements for Indicator "D" of 200 points. 64 of the citations are in publications included in the thesis for the scientific degree "doctor" and presented in the competition for "associate professor". The remaining 88 citations are of publications submitted for participation in the present "Professor" competition. *The Hirsch index (h) on all publications of Assoc. Prof. Yancheva, according Scopus is 11, which satisfies the requirements of the IOCCP Rules for  $h \geq 10$ .* The scientific activity of Assoc. Prof. Yancheva includes 14 participations in national projects, 3 participations in international projects and management of 3 national projects. The results of her research have been presented many times in national and international scientific forums with: 26 posters and 2 reports at international forums, and 9 posters at national forums with international participation. Two of the poster performances (in 2017 in Pirot, Serbia and in 2018 in Varna, Bulgaria) received the Best Poster Award.

**4. Conclusion.** *In the competition for the academic position "Professor", Assoc. Prof. Dr. Denitsa Yancheva presented a sufficient number of original scientific papers, published after obtaining of her "Doctor" scientific degree and after occupation of the academic position "Associate Professor". The results achieved by the candidate are in line with the specific requirements of IOCCP-BAS for the academic position "professor". The candidate's research contains original scientific contributions that have received international recognition. The theoretical and experimental studies carried out and the results obtained have practical applicability. Assoc. Prof. Yancheva possesses undoubted scientific qualification and potential to perform and supervise valuable research in the future. Based on the survey of the materials and scientific works presented in the competition, the analysis of their importance and the scientific and applied contributions, I find it justifiable to give a **positive assessment by voting "yes"** and strongly recommend that the Scientific Jury prepare a report-proposal to the Scientific Council of IOCCP-BAS for the selection of Assoc. Prof. Dr. Denitsa Yancheva in the academic position of "Professor" at IOCCP-BAS in Professional Field 4.2. Chemical Sciences, specialty "Organic Chemistry".*

09.09.2019

Reviewer:

(Prof. Dr. Natasha Trendafilova)