

## РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Илиян Иванов Иванов  
катедра „Органична химия“, ПУ „Паисий Хилендарски“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен ”доктор”

в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика  
професионално направление: 4.2. Химически науки  
научна специалност: Органична химия

**Автор: асистент Яна Иванова Николова**

**Тема: „Синтез на многофункционални органични съединения с потенциална биологична активност и приложение в асиметричния синтез“**

**Научни ръководители: проф. дн Владимир Димитров  
доц. д-р Георги Добриков**

Със заповед № НД-05-05-17/07.04.2017 г. на Директора на ИОХ ЦФ - БАН съм определен за член на научно жури и с решение на научното жури (протокол №1 от 11.04.2017 г.) да изготвя рецензия по процедура за защита на дисертационен труд на тема *„Синтез на многофункционални органични съединения с потенциална биологична активност и приложение в асиметричния синтез“* за придобиване на образователната и научна степен “доктор” в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика., професионално направление 4.2. Химически науки, докторска програма Органична химия. Автор на дисертационния труд е ас. Яна Николова - докторант в редовна форма на обучение към ИОХЦФ БАН.

Представеният от ас. Николова комплект материали на електронен носител е в напълно съответства на изискванията на ЗРАС в РБ и правилника за неговото приложение, както и Правилника за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИОХЦФ-БАН и включва:

- автобиография;
- диплома за висше образование (ОКС „магистър“);
- протокол от издържан изпит по специалността и изпити включени в индивидуалния план на обучение;

– протокол от заседание на колоквиума по "Строеж и реакционна способност на органичните съединения и органичен синтез " (СРСОСОС) към ИОХЦФ-БАН (предварителна защита) за допускане до публична защита на дисертационен труд;

- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- копия на научните публикации;
- списък на забелязани цитирания;
- списък от участия в конференции.

### **Биографични данни за докторанта**

Ас. Николова е завършила висше образование в СУ „Св. Климент Охридски“, Факултет по химия и фармация, специалност „Химия“ (ОКС „магистър“) и професионална квалификация „Съвременни методи за синтез и анализ на органични съединения“. Защищава с отличен успех дипломна работа на тема „*Синтез на нови производни на (R)-2-аминобутанола и (1S)-(-)-фенхона и изучаване на тяхната in vitro активност*“ (Диплома № 219203/16. 01.2013г.).

В периода 01.10.2012г.–30.09.2015г. Яна Николова се обучава като докторант–редовна форма на обучение по научна специалност „Органична химия“ към ИОХЦФ-БАН. От 01 октомври 2015г. до момента заема длъжността асистент в същия институт на БАН.

През периода на своето обучение ас. Николова е изпълнила в пълен обем образователната част от своя индивидуален план. Положила е успешно изпит по специалността с обща оценка мн. добър 5.00. Посещавала е курсове за повишаване на своята езикова подготовка по английски език и специализирани курсове свързани с нейните преки научни интереси - "*Получаване на металоорганични съединения за селективни трансформации в органичния синтез*" и "*Аспекти на енантоселективния синтез и съвременни приложения*". В представените документи по процедурата няма данни за преподавателска дейност.

### **Характеристика на дисертационния труд**

Дисертационният труд е изложен на 171 стандартни страници. Структуриран е по познатия класически начин – съкращения и понятия, използвани в текста на дисертацията- 2 стр., съдържание-3 стр., увод- 4, цели и задачи- 1 стр., литературен обзор- 51 стр., резултати и дискусия- 37 стр., изводи- 2 стр., експериментална част-

63 стр. и литература- 6 стр. Включва 12 таблици, 41 фигури и 40 схеми. Библиографията обхваща 174 литературни източника, като най-ранният е от 1849г., а 54 (31%) са от последните десет години. Включените линкове в съдържанието и цитираната литература в електронния формат на дисертацията в значителна степен улесняват запознаването с материала.

### **Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи**

В уводната част на дисертационния труд ясно и точно е посочена особената значимост на енантиомерната чистота при приложение в медицинската практика на хирални съединения. Посочени са конкретни примери от практиката, които нагледно показват проблемите при приложението на рацемични смеси като лекарствени вещества (класическия пример с лекарственото вещество *Thalidomide*). Представени са трите основни направления за получаване на стереоизомерно чисти съединения, като са посочени предимствата на каталитичния асиметричен синтез. На базата на синтеза на „модерния“ антидепресант *Prozac* е демонстрирана в частност значимостта на асиметричната редукция на прохирални кетони, като важни синтетични интермедиати. От уводната част за съжаление не става ясно защо докторантката се насочва „по- конкретно“ към получаване на съединения с потенциална антитуберкуозна активност.

Формулираната цел на дисертационния труд безспорно е в съвременна, актуална и перспективна област на органичния синтез, а именно „разработване на подходи за синтез на хирални съединения с потенциална биологична активност, както и на хирални съединения, подходящи за приложение като лиганди в асиметричния синтез“. Формално целта е съставена от две отделни части, които докторанта умело, логически съчетава. За постигане на поставената цел са дефинирани пет отделни, ясно и точно формулирани за решаване, задачи с изключение на т. 5. Считаю, че „характеризиране на синтезираните съединения“ е излишно.

### **Познаване на проблема.**

След успехите постигнати в борбата срещу туберкулозата през миналия век и приемането, че човечеството се е „справило“ с проблема туберкулоза, към настоящия момент отново се наблюдава засилен интерес към търсенето на нови лекарствени вещества, които както да облекчат продължителното и трудно лечение (комбинирано приложение на няколко препарата), също така и да се справят с проблема мултирезистентност.

В съответствие с поставените цел и задачи на дисертационния труд, в литературния обзор последователно е отразена класификацията и особеностите на съединенията с антитуберкуозна активност, особено внимание е обърнато на синтеза и антитуберкуозната активност на хирални полифункционални съединения. Предвид проведените изследвания основно място в обзора е отделено на антимикобактериалната активност на съединения производни на етилендиамини и аминокалкохоли. Вниманието е насочено към съединението 2,2'-(етилендиимино)-ди-1-бутанол (етамбутол), което независимо от умерената си активност се е наложило като лекарство от първи ред и употребата му продължава и до днес. Отражена е зависимостта на биологичната активност, както от структурни промени в молекулата, така също и ключовото влияние на стереохимията върху биологичната активност. Посочени са съществуващите алтернативни синтетични подходи за синтеза на активния S,S-енантиомер.

Подчертано е, че български автори (групата на проф. В. Димитров ) за първи път синтезират, производни на (R)-2- аминокалкохола, включващи разнообразни заместители, като десет от тях показват много добра *in vitro* активност спрямо референтен щам *Mycobacterium tuberculosis* и същевременно пет от тях притежават и изключително ниска цитотоксичност. Изследванията са продължени с получаването на поредица производни на природния (1R)-(+)-камфор или негови аминокалкопроизводни, с помощта на стереоселективни трансформации.

Стегнато, в аналитичен вид са представени и последните разработки на антитуберкуозни препарати, производни на нитроимидазоли, оксазолидинони, диарилхинолини, карбамиди и тиокарбамиди и производни, съдържащи цинамамидна или салициламидна групи.

Предвид поставените задачи във връзка с разработването на методи за получаване на хирални вторични аминокалкохоли, като лиганди за енантиселективна редукция са разгледани обстойно и компетентно известните данни в литературата, както са дискутирани и предполагаемите механизми на тези реакции. Показано е важното място на асиметричната редукция на прохирални кетони, като един от най-ефективните методи за получаване на хирални вторични алкохоли с висок енантиомерен излишък. Наблегнато е върху енантиселективна редукция на прохирални кетони с борани. Особено внимание е отделено на образуването на аминокалкохол-боран комплекс като катализатор и неговата роля като хирален катализатор. В частност са разгледани възможните механизми на реакцията на енантиселективна редукция предложени от Corey и сътрудници (CBS-

редукция) с образуване на оксазаборолидин (по-късно изолиран и характеризиран). Изтъкнато е, че редица научни групи започват разработването на оксазаборолидини, наподобяващи структурата на CBS-катализатора с цел доказване на връзката структура на катализатора - енантоселективност. Подчертано е влиянието на стеричния обем на двата геминални заместителя в оксазаборолидиновия цикъл върху ефективността на катализатора. Отделено е внимание на наскоро публикувани резултати от синтеза на лиганди, получени от квадратната киселина с хирални аминокиселини, като е акцентирано на твърдението на авторите за благоприятно хирално обкръжение за осъществяване на асиметрична индукция.

Предвид приложението на получените хирални аминокиселини като лиганди в енантоселективно присъединяване на диетилцинк към бензалдехид в литературния обзор е обърнато отделено внимание. Освен посочването на основните особености на реакцията, авторът прави и сравнение с реакцията на редукцията на кетони, като извежда общите закономерности и различията между тях.

Като цяло представеният обзор показва отлична информираност, аналитично и задълбочено вникване в проблема. Демонстрира компетентност в областта на темата на дисертационния труд, способност на докторанта да систематизира и анализира критично литературни данни - оригинални статии, монографии и справочници, патенти.

#### **Приноси и значимост на разработката за науката и практиката.**

Проведените изследвания очевидно са част и естествено продължение на научната тематика разработвана от изследователската група на проф. дн Владимир Димитров, както и на магистърската дипломна работа на ас. Николова.

Описаните в дисертационния труд на ас. Николова изследвания в първата си част имат има по-скоро практическа насоченост. Авторът успява умело да комбинира и прилага познати методи за синтез на карбамиди и тиокарбамиди (взаимодействие на амини с изоцианати, тиоизоцианати, нагряване в присъствие на карбамид и др. ), като в зависимост от конкретния случай развива и до усъвършенства класическите методи. Чрез използване на хирален субстрат са получени серия енантиомерно чисти производни на (*R*)-2-аминобутанола (22 съединения) и 2-аминоетил фенхола (2 съединения) съдържащи карбамидна, респективно тиокарбамидна функционални групи. Умело подбраните реакционни условия позволяват региоселективно протичане на реакциите засягайки само аминокиселинната група, съхранявайки стереохимията на субстрата. С оглед изследване на антитуберкулозната активност, прилагайки алтернативни методи за синтез на амиди,

сулфонамиди и фосфамиди (три различни синтетични процедури- ацилиране с киселинни хлориди, аминолиза на естери или директно взаимодействие с карбоксилни киселини) са получени 15 съединения производни на 2-аминоетил фенхола.

С четиридесет от новополучените съединения производни на (*R*)-2-аминобутан-1-ол и 2-аминоетил фенхол са проведени биологични тестове с оглед проучване на тяхната антитуберкулозната активност спрямо стандартен лабораторен щам *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv и мултирезистентен щам. За шест съединения производни на (*R*)-2-аминобутан-1-ол и две на 2-аминоетил фенхол е установена висока активност сравнима или по-добра от активността на еталона етамбутол. За част от съединенията е определена и цитоксичност, респективно индекс на селективност. В тази връзка „потенциална биологична активност“ посочена в заглавието на дисертацията вече е установена.

Предвид възможната двойна употреба на хиралните полифункционални органични съединения и в частност  $\beta$ -аминоалкохолите, освен тяхната биологична активност, изследванията са насочени и към проучване на възможностите за приложение на последните и като лиганди за метал-катализирани химични трансформации, които от своя страна са интермедиати при синтеза на биологично активни вещества. В тази си част изследванията имат по-скоро фундаментален характер в областта на органичния синтез, макар и с практическа насоченост. Стъпвайки на основата на данни от литературни източници, авторът е заинтригуван от положителните резултати получени при комбинирането на хирални аминокиселини със структурата на квадратната киселина и тяхното ефективно приложение като хирални лиганди.

Използвайки специфични реакционни условия, разработвайки оригинални методики, последователно са получени моно- и ди-заместени производни на квадратната киселина с включени фрагменти на хирални аминокиселини и аминитърговски продукти, получени по процедури разработени в групата на проф. Димитров или разработени оригинални методики.

Проучена е каталитичната активност на осемнадесет моно- и ди- производни на квадратната киселина и тази на съответните аминокиселини и амини в реакцията на редукция на  $\alpha$ -хлороацетофенон с борандиметилсулфид комплекс. Установено е, че фрагментът на квадратната киселина оказва отрицателно влияние върху асиметричната индукция при редукцията на кетона, нещо което е в противоположност на известните литературни данни. С цел изясняване на по-

ниската степен на енантиселективност постигната с производни на квадратната киселина са предприети изследвания върху стабилността на формиращите се каталитични комплекси с помощта на съвременни ЯМР техники- едномерни ( $^1\text{H}$  и  $^{11/10}\text{B}$ ) и двумерни ( $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HMBC,  $^1\text{H}$  DOSY и COSY). Предложени са възможни структури на образуващите се интермедиати.

Установената висока енантиселективност при употреба на стерично запречен лиганд при въглеродния атом свързан с хидроксилната група е предпоставка за насочване на изследванията към синтез на аналози на *R*- и *S*-2-аминобутан-1-ол, *S*-фенилглицинол и *R*-2-амино фенхол, стерично запречени със заместители при азотния атом. Проведените изследвания на получените аминокалхоли в реакция на редукция на пропиофенон с боран диметилсулфид за съжаление показват ниска или отсъствие на енантиселективност.

В раздел експериментална част, внушителна по обем (предвид големия брой синтезирани съединения), акуратно са описани процедурите за тяхното получаване. Получените нови съединения са характеризирани чрез определяне на температура на топене, специфичен ъгъл на въртене. Структурата им е еднозначно определена с прилагане на съвременни аналитични методи и техники (мас-спектрометрия, елементен анализ, ЯМР спектроскопия - едномерни ( $^1\text{H}$  и  $^{11/10}\text{B}$ ) и двумерни ( $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HMBC,  $^1\text{H}$  DOSY и COSY).

#### **Преценка на публикациите свързани с дисертационния труд.**

Научните резултати от дисертационния труд на ас. Яна Николова са разпространени сред световната научна общност чрез две публикации в реномираното списание *European Journal of Medicinal Chemistry* (IF<sub>5years</sub> 3.982) съответно през 2013 и 2014г. И в двете статии докторантката е трети автор. Към момента са забелязани десет цитата (6 респективно 4). Показателно за качеството и актуалността на изследванията е краткото време, за което научните съобщения са забелязани и цитирани. Цитатите основно са свързани с биологичната активност на получените съединения. Голяма част от резултатите получени от работата по дисертацията не са публикувани, но предвид тяхното качество сигурен съм ще се случи в най- скоро време.

Резултатите получени при работата върху дисертацията са докладвани и на седем научни форуми, от които три международни (един в Словакия и два в Италия).

#### **Лично участие на докторанта.**

Не съм пряк свидетел на проведените изследвания и липсата на „приноси“ не ми позволява точно да преценя личното участие на докторанта в проведените

изследвания, но приемам, че синтетичните резултати и изведените изводи изцяло са дело на докторанта, докато в проведените биологични изпитания, ас. Николова няма водеща роля.

### **Автореферат**

Авторефератът на дисертацията е написан в съответствие с утвърдените правила. Точно и коректно отразява съдържанието на труда и приносите направени в него в резюмиран вид.

### **Критични забележки и препоръки.**

Разбира се както във всеки дисертационен труд, могат да бъдат открити неточности и дадени критични бележки. Като цяло дисертационната работа е изработена и написана старателно, а забелязаните неточности са несъществени и не променят отличното впечатление от добре свършената работа.

Няколко забележки:

....“България, която като част от Балканите се намира в регион с контрастираща епидемиологична ситуация по отношение разпространението на туберкулоза“....в смисъл?

В молекулата на етамбутола (използван за сравнение) и получени производни на базата на (*R*)-2-аминобутан-1-ол, хидроксилната и аминоксидната групи са в позиция 1,2. В структурата на 2-аминоетил фенхола са в позиция 1,3. Има ли данни как влияе удължаването на въглеродната верига върху биологичната активност. Сравнявайки съединения 4-3 и 4-34, и каталитичната им способността, разликата е очевидна.

.....липофилността им е от ключово значение- стр. 64. Не е уточнено в посока на по- липофилни или по- хидрофилни. В табл. 4-1, 4-2, 4-3 са посочени изчислени стойности на  $\log P$  на получените съединения сравнени с експериментално определена за етамбутол, оставени без коментар в дисертацията.

....„сухи“ разтворители- „безводни“ може би е по точно.

Едновременно използване на „точка на топене“ и „температура на топене“, стр.104;

„Всички получени съединения са изпарени на ротационен вакуум изпарител с мембранна помпа на фирма Buchi“(стр. 103) звучи нелогично.

### **Заклучение**

Проведените изследвания са в актуална и интересна област от съвременното познание и в частност в търсенето на нови по- ефективни лекарствени вещества за борба с обществено значими заболявания. Извършена е огромна по обем и качество експериментална работа. Едновременно с натрупването на полезна информация,



работата по дисертацията оставя и много отворени врати, което позволява по-нататъшно интензивно продължаване на изследванията.

В заключение считам, че кандидатът притежава задълбочени теоретични знания в областта на органичния синтез и способност за самостоятелни научни изследвания. Дисертационният труд на ас. Яна Николова съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката, отговаря на изискванията за присъждане на образователната и научна степен "доктор" съгласно ЗРАС в РБ и надхвърля критериите залегнали в Правилника за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИОХЦФ-БАН. В съответствие с гореизложеното и във връзка с чл. 10. ал.1 от ЗРАСРБ предлагам **положителна оценка** на дисертационния труд.

гр. Пловдив  
27 май 2017 г.

Член на НЖ  
проф. д-р Илиян Иванов

