

РЕЦЕНЗИЯ

дисертационен труд за получаване на образователна и научна степен „Доктор“,

на тема *„Синтез и охарактеризиране на заместени производни на имидазола с потенциален биологичен ефект“*

с автор *Силвия Йорданова Атанасова-Стамова*

Област на висше образование: 7. *Здравеопазване и спорт*

Професионално направление: 7.3. *Фармация*

Докторска програма: *Фармацевтична химия*

Форма на докторантурата: *Редовна форма*

Научни ръководители:

доц. Светлана Фоткова Георгиева, д.ф.

доц. Мая Боянова Георгиева д.ф.

Катедра: *„Фармацевтична химия“ при Факултет по фармация на Медицински университет – Варна „Проф. д-р Параскев Стоянов“*

Рецензент: *доц. Величка Йорданова Андонова, дф*

Научна специалност: *Технология на лекарствените форми и биофармация*

Институция: *Факултет по фармация, Медицински университет – Варна „Проф. д-р Параскев Стоянов“*

Вътрешен член на Научно жури, назначен със заповед № №Р-109-40/25.01.2021 г. на Ректора на Медицински университет – Варна „Проф. д-р Параскев Стоянов“.

Адрес за контакт:

Пощенски адрес: *гр. Варна 9000, бул. Цар Освободител 84, Факултет по фармация, Катедра по фармацевтични технологии, УС по технология на лекарствените форми и биофармация, каб. 306 (МК, ет. 3)*

Електронен адрес: *Velichka.Andonova@mu-varna.bg; andonova_v@abv.bg*

Тел.: +359 52 677 050; + 359 888 603 272

Общо представяне на процедурата

Представеният комплект материали от докторантката Силвия Атанасова-Стамова са в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав в Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ -Варна (МУ-Варна).

Тя е зачислена като редовен докторант в катедра „Фармацевтична химия“ на Факултет „Фармация“ към МУ-Варна с научни ръководители доц. Светлана Фоткова Георгиева, дф и доц. Мая Боянова Георгиева, дф (Заповед № Р-109-467/29.12.2017). По време на своята подготовка тя е следвала стриктно процедурата по отношение на изискванията на редовна докторантура, което е видно от представените документи. Отчислена е с право на защита със Заповед № Р-109-40/25.01.2021 г.

Кратки биографични данни за докторанта

Силвия Атанасова-Стамова е родена през 1982 г. През 2016 г. се дипломира във Факултет „Фармация“ на МУ-Варна като магистър-фармацевт. От септември 2017 г. до сега работи в Катедра по фармацевтична химия на Факултет по фармация към МУ-Варна като асистент. Преди това (2004 г.) е завършила Медицински колеж на МУ-Варна, специалност „помощник-фармацевт“. Трудовият ѝ път започва като помощник-фармацевт в аптека, продължава като медицински представител, а след като се дипломира като „магистър-фармацевт“ за няколко месеца работи в болнична аптека, преди да спечели конкурс за асистент в настоящата катедра. Владее английски език (B1). Редовен член е на Български фармацевтичен съюз (БФС) и на БОБФ.

Структура и раздели на дисертационния труд

Представеният ми за рецензия дисертационен труд съдържа 176 страници и е онагледен с 122 фигури и 28 таблици. Цитирани са 160 литературни източника, три на кирилица и 157 на латиница, от тях след 2010 г. - 75 бр. и след 2015 г. - 39 бр. Трябва да отбележа изключително доброто оформяне на дисертационния труд. Научният труд включва следните раздели: въведение (3 стр.), литературен обзор (53 стр.), цел и задачи (2 стр.), материали и методи (17 стр.), резултати и обсъждане (73 стр.), изводи (2 стр.), приноси (1 стр.), списък на публикациите (1 стр.) и използвана литература (14 стр.). Структурата на дисертацията е в съгласие с Правилника за развитие на академичния състав в МУ-Варна.

Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Съвременното общество се характеризира с възможността за свободно предвижване на хора и стоки, което води до лесен пренос на патогени в различни региони. Освен това, широката употреба на антимикробни лекарства, отключва еволюционни механизми в микробния свят и те стават устойчиви на антимикробните средства. Така антимикробната резистентност се превръща в кризисен за решаване проблем, който се задълбочава ежедневно, и затруднява лечението на редица заболявания. Постоянно нарастващият брой на пациенти, нуждаещи се от ефективно и ефикасно лечение с антимикробни средства и необходимостта от осигуряване на достъпни цени на използваните лекарствени продукти правят темата на дисертационния труд на Силвия Атанасова - Стамова, изключително **актуална**. Конкретната научна и практическа насоченост, особено в посока на установената по-силна антимикробна активност спрямо изследваните клинични изолати и референтен шам в сравнение с метронидазол след въвеждането на амидна група в структурата на метронидазоловите производни, **категорично подчертава нейната значимост**. Целта на дисертацията и произтичащите от нея задачи за решаване са много точно и конкретно дефинирани.

Познаване на проблема

Литературният обзор е поместен на 53 страници и е базиран на богат литературен материал – **160 източника** (3 от които на кирилица) от последните 10 години, а така също и от един по-дълъг период от време. Онагледен е със 72 фигури и 4 таблици.

Обзорът показва задълбочено разглеждане и познаване на материята, а именно: обща характеристика на имидазол и имидазолови производни, включваща химия, видове имидазол съдържащи молекули, методи за получаване на имидазолови производни и фармакологични ефекти; амиди с включен фокус върху стабилността им; и метронидазол, разгледан в същия ред. Последователно и аргументирано са представени всички значими проблеми, съществуващи в разискваната тема. Демонстрирани са изчерпателност, ясен и разбираем стил на писане, аналитичност и логическа връзка между разделите на литературния обзор.

Цел и задачи на изследванията

На базата на направения литературен обзор, дисертантката прави обобщение, в което се обосновава научния проблем, **рефлектирал в целта на настоящата дисертация**, а именно да бъдат синтезирани, структурно охарактеризирани и изследвани за антибактериална чувствителност, нови и не описани в литературата производни на метронидазол. Дефинирани са **8 основни задачи**, като последователността и решаването им дава възможност за постигане на крайната цел.

Методика на изследването

Избраните методики дават възможност за задълбочено, аналитично и логично решение на поставените задачи във връзка с посочената цел на дисертационния труд. Методите за синтез са описани обстойно и дават възможност за възпроизвеждане, а използваните инструментални аналитични методи са съвременни и правилно използвани. Открита е техническа грешка в теста за стабилност, където е посочено, че пробите са инкубирани 24 часа – 2880 минути, което отговаря на 1440 минути.

Анализ на резултатите

Проведените собствени изследвания са представени на 73 страници и включват 50 фигури и 22 таблици, представени в ясен и прегледен вид. Изследванията са проведени в следните основни направления, които следват логично поставените задачи, а именно:

1. *Синтез на целеви производни на метронидазол.* Разработен е двуетапен синтетичен метод за получаване на амиди производни на метронидазол, с помощта на който са синтезирани две нови производни – МТ2 и МТ3. Синтетичната схема е класическа, като е приложен успешно карбодиимидния метод за синтез на амиди. Кинетиката на процеса е проследена посредством прилагането на тънкослойна хроматография.
2. *Структурно охарактеризиране на новополучените съединения, посредством инструментални методи за анализ.* За охарактеризиране на новополучените производни са използвани инструментални методи за качествен и количествен анализ. Проведените ATR-FTIR спектроскопия и ^1H и ^{13}C NMR спектрален анализ предоставят данни за пълното охарактеризиране на структурните особености на изследваните съединения. Проведен е UV-Vis спектроскопски анализ на метронидазол, МТ1, МТ2 и МТ3 за идентифициране на спектралното поведение и абсорбционните свойства на изследваните съединения, а опитно установените абсорбционни максимуми на отделните съединения са приложени в при определяне на стабилността на новите амидни производни.
3. *Прилагане на UV-Vis метод за предварителна оценка на стабилността на получените производни.* Разработеният UV-ViS спектроскопски метод е използван за предварителна оценка на хидролитичната стабилност на новосинтезираните амидни производни. Правилен е изборът на среди с физиологични рН-стойности в различните сегменти на ГИТ, както и в кръвната плазма, а именно 1.2, 6.0 и 7.4. Изследването при рН 9, според мен, има по-скоро научна стойност по отношение на хидролитичната стабилност на разглежданите съединения, тъй като по-скоро е свързано с проява на патология, отколкото с нормално физиологично състояние. При подбора на среда за

изследване на стабилността, въпроси от първостепенна важност са анатомо-физиологичните особености на мястото на приложение и изборът на лекарствена форма. В това отношение, изборът на метанол като разтворител не бих казала, че е най-подходящ. На базата на получените данни от абсорбционните максимуми на изследваните съединения спрямо времето следва резултатите да се представят като количество неразградено или разградено съединение спрямо времето, за да бъде достатъчно информативен теста. Изследването може да бъде обогатено с данни за кинетиката на процеса на хидролитично разграждане на отделните съединения, както и да бъде направен паралел с резултатите, получени от други изследователи, особено по отношение на метронидазол и неговите разпадни продукти.

4. *Разработване на изократичен RP-HPLC/UV метод за анализ на метронидазол и неговите производни MT1, MT2 и MT3.* Разработен и валидиран е изократичен HPLC метод за идентифициране на метронидазол и неговите производни самостоятелно и в смеси. Методът е валидиран съгласно изискванията на ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures. Установено е, че този метод е неподходящ за анализ на смеси от изследваните аналити, поради недобро разделяне при така подобрите условия.
5. *Разработване на градиентен UHPLC/UV метод за анализ на метронидазол и неговите производни MT1, MT2 и MT3.* Разработен и валидиран е градиентен UHPLC метод за идентифициране на метронидазол и неговите производни самостоятелно и в смеси. Методът е валидиран съгласно изискванията на ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures. Установено е, че градиентният UHPLC/UV метод е по-подходящ за определяне на метронидазол и негови производни самостоятелно и в смеси.
6. *Оценка на вероятен кожен метаболизъм на метронидазол, неговите метаболити и новите амидни производни и теоретична оценка на микробиологичната активност на метронидазол, неговите метаболити и новосинтезираните амидни производни.* С помощта на теоретични подходи успешно са идентифицирани възможностите за метаболитно микробно активиране на метронидазол, неговите метаболити и производни. Определена е възможността за кожна метаболитна активация и получаване на дермални метаболити. В резултат на проведения QSAR Toolbox анализ е установено, че новите амидни производни имат потенциал за кожна метаболитна активация за разлика от изходната структура. Изследваните съединения претърпяват метаболитна активация с потенциална възможност за образуване на 59 метаболита за MT2 и 72 метаболита за MT3.

7. *Антиоксидантна активност.* Проведена е оценка на антиоксидантния потенциал на новополучените производни на метронидазол посредством два подхода – способност за електронен пренос – ABTS-тест, пренос на водороден атом - DPPH-тест. Установено е, че метронидазол и синтезираните производни нямат антиоксидантна активност.
8. *Микробиологично изследване на потенциална антимикробна активност на нови метронидазолови производни.* Установена е микробната чувствителност на новите амидни производни спрямо клинични изолати и референтен щам на *S. aureus* и *C. albicans*. Определена е минималната потискаща концентрация и минималната бактерицидна концентрация на MT2 и MT3 спрямо *B. fragilis* ATCC25285. Установено е, че въвеждането на амидна група в структурата на метронидазоловите производни води до поява на по-силна антимикробна активност спрямо изследваните клинични изолати и референтен щам в сравнение с метронидазол.

Изводи

В синтезиран вид са направени 9 извода, които произтичат логично от получените резултати от всяка една задача поотделно. Изводи 8 и 9 са направени на базата на резултатите при решаване на задача 8 и определят основните научно-теоретични и приложни приноси на дисертационния труд на Силвия Атанасова-Стамова.

Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Детайлното ми запознаване с дисертационния труд на Силвия Атанасова-Стамова показва, че в него има налице, както научно-теоретични, така и научно-приложими приноси, които са с оригинален характер и са реално защитени в представения труд.

Преценка на публикациите по дисертационния труд

Докторантката има общо 3 публикации по дисертационния труд. Публикуваните статии отразяват експерименталните изследвания, включени в дисертацията. Силвия Атанасова-Стамова е взела участие в 4 (четири) научни форума у нас и в чужбина. Представените материали са във връзка с дисертационния труд.

Лично участие на докторанта в проведеното дисертационно изследване

Личното участие на докторантката в обширния преглед на проблема, формулиране на целта и задачите, провеждане на експерименталните изследвания, анализ на резултатите и изведените приноси е налице. Видно е задълбочено разбиране на специфичната материя и свободно боравене с терминология в дисертационния труд. Налице е умение да се представят и описват научните резултати, както и подкрепата на научите ръководители.

Автореферат

Авторефератът е изготвен съгласно изискванията. В него са включени целта и задачите и описание на използваните материали и методи. Представените изследвания и обсъждане напълно отразяват основните резултати, постигнати в дисертацията. Получените резултати са онагледени с достатъчен брой фигури и таблици. Изводите съвпадат с тези в дисертационния труд. Включени са научните приноси, както и списък на публикациите и участия в научни форуми във връзка с дисертационния труд. Запознаването с автореферата дава възможност напълно да бъде разбран разработвания проблем, проведените изследвания и тълкуване на получените резултати.

Критични забележки и препоръки

Нямам съществени критични забележки към представения дисертационен труд. Бих отбелязала в допълнение към забелязаната техническа грешка в представяне на часовете в минути за инкубиране на пробите от теста за стабилност, че на стр. 108 „Прилагане на UV-Vis метод за предварителна оценка на стабилността на получените производни“ е под Номер 8, вместо под номер 3. Направените коментари тук и в т.3 от Анализ на резултатите от настоящата рецензия в никакъв случай не омаловажава стойността на извършената работа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа оригинални научни и научно-приложни резултати, които представляват принос в науката* и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на МУ-Варна.

Дисертационният труд показва, че докторантката **Силвия Йорданова Атанасова-Стамова притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научната специалност „Фармацевтична химия“ като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научни изследвания.

Поради гореизложеното, убедено давам своята *положителна оценка* за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси и *предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „Доктор“ на Силвия Йорданова Атанасова-Стамова* в докторска програма „Фармацевтична химия“ за разработка на тема „Синтез и

охарактеризиране на заместени производни на имидазола с потенциален биологичен ефект“.

10.03.2021 г.

гр. Варна

Рецензент: 

(доц. Величка Андонова, дф)