

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Александър Борисов Златков, дфн,
преподавател в Катедра по фармацевтична химия, Фармацевтичен факултет,
Медицински Университет – София, определен за член на научно жури на
основание чл. 4, ал 1 и 2, ЗРАСРБ, Решение на Факултетния съвет на факултет
Фармацгs при МУ – Варна и заповед на № Р-109-114/09.02.2023 г. Ректора на
Медицински Университет – Варна

Относно: дисертационен труд за придобиване на ОНС "доктор" в Област на
висшето образование 7. *Здравеопазване и спорт*, професионално направление:
7.3. *Фармация* и докторска програма: *Фармацевтична химия*

Тема: "Синтез, охарактеризиране и изследване на токсичността на естери
на бексаротен"

Автор: маг.-фарм. Ивелин Росенов Илиев, редовен докторант по докторска
програма „Фармацевтична химия”, зачислен със заповед №
Р-109-53/31.01.2020 г. към катедра Фармацевтична химия при факултет
Фармация, Медицински Университет – Варна.

Научни ръководители: доц. Светлана Георгиева, дф
доц. Яна Колева, дх

I. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен и електронен носител е в
съответствие с изискванията на МУ – Варна и включва следните документи:

1. Заявление до Ректора за разкриване на процедура по защита;
2. Дисертационен труд
3. Автореферат на дисертационен труд
4. Автобиография с подпис на докторанта;
5. Копие на диплома за завършено висше образование
образователно-квалификационна степен ОКС „Магистър“ с приложението
към нея;
6. Заповед за зачисляване;
7. Протокол от проведен изпит за докторски минимум;
8. Протокол от КС с положително решение за готовността за защита;
9. Заповед за отчисляване с право на защита;
10. Декларация за оригиналност;

- 11.Списък с публикациите, свързани с темата на дисертационния труд с подпис на докторанта;
12. Копие на публикациите, свързани с темата на дисертационния труд
13. Декларация за достоверност на представените документи
14. Декларация за регистрация на профили в научни бази данни

Докторантът е приложил 4 (четири) научни публикации, всички свързани с темата на разработения дисертационен труд.

Бележки и коментар по документите нямам.

Ивелин Росенов Илиев, е роден на 11.11.1994 г. Завършва висшето си образование по специалност „фармация” с ОКС „магистър” през 2019 г. във факултет Фармация при МУ – Варна. Със Заповед № Р-109-53/31.01.2020 г. е зачислен като редовен докторант в област на Висшето образование „7. Здравеопазване и спорт”, професионално направление: „7.3. Фармация”, докторска програма: „Фармацевтична химия” с научни ръководители доц. Светлана Георгиева, дф и доц. Яна Колева, дх. към катедра Фармацевтична химия на факултет Фармация при МУ – Варна. Със Заповед № Р-109-114/09.02.2023 г. е отчислен с право на защита до една година, считано от 09.02.2023 г..

II. Кратка характеристика на структурата на дисертацията

Представеният дисертационен труд е написан на 171 страници от които 2 страница въведение, 64 страници литературен преглед, 1 страница цели и задачи, 15 страници експериментална част, 59 страници резултати и обсъждане, 1 страници изводи, 1 страница приноси , 14 страници литература. Работата включва 37 таблици и 63 фигури, както и 1 приложение с 5 фигури, както и 1 страница използвани съкращения.

III. Актуалност и дисертабилност на разработката

Ретиноидите са клас химични съединения, производни на витамин А намиращи приложение за лечение на ограничен брой заболявания, включително кожни заболявания като акне и псориазис, и за лечение на някои видове рак. Въпреки добрите терапевтични ефекти, приложението им е ограничено поради техния токсикологичен профил. Намаляването на нежеланите лекарствени реакции при синтетичните ретиноиди води до нарастването на употребата им като терапевтични средства, а също и до по-доброто разбиране на техния механизъм на действие.

От друга страна един от подходите за оптимизиране на лекарствения профил на лекарствата е прилагането на така наречения „предлекарствен

дизайн“. Чрез него се цели подобряването на физико-химичните, фармакокинетичните, фармакологичните, токсикологичните и дори органолептичните свойства на молекулата. Абстрахирайки се от всички трудности, с които се изследователите се сблъскват в предлекарствения дизайн, разработването на предлекарства е по-бърза и до голяма степен икономически по-изгодна стратегия от търсенето на изцяло нов терапевтично активен агент с подходящи ADMET свойства. Един от основните проблеми в тази насока е предсказването на нивата на биоконверсия и фармакологичните и/или токсикологичните ефекти на предлекарствата.

Настоящата работа е насочена към синтез, охарактеризиране на синтетични ретиноиди от групата на естерните производни на бексаротена, както и изследвания върху прогнозиране на метаболитната активност и анализ на проявените *in vivo* общотоксични ефекти на изследваните съединения. В този смисъл рецензираният дисертационен труд е **актуален** с възможността за извеждане на насоки за оптимизиране на търсенето на нови синтетични ретиноиди.

IV. Критичен анализ на дисертационния труд

Литературният обзор (общо 64 страници) е оформен на базата на 213 литературни източника, основно на латиница. От цитираните литературни източници 39 са от последните десет години, а 21 – от последните пет. Литературният обзор е изчерпателен, информацията в него осветлява същността на дискутираните в дисертационния труд проблеми и предизвикателства при получаването и изследването на нови бексаротенови производни и показва добрата осведоменост на докторанта по разработвания проблем. Обзорът е написан стегнато и с разбиране, но същевременно е обстоен и отразява в пълнота химията и фармакологията на бексаротена, както и възможностите за получаване на нови негови производни. Осветлени са редица въпроси свързани със структурното охарактеризиране на ретиноидите, както и някои подходи за *in silico* прогнозирането на биологичен ефект и теоретична оценка на токсичността на бексаротен и производни.

Целта на дисертационния труд – да бъдат получени, структурно охарактеризирани и изследвани група нови, не описани в литературата Бексаротенови естерни производни и да бъде изготвен токсикологичен профил на ретиноидните аналози, се подсказва от литературния обзор. Считаю, че щеше да бъде значително по-добре обоснована ако литературният обзор завършваше с обобщение, а с ясно формулирани изводи, които естествено да насочват към целта. За реализирането и са набелязани 6 конкретни **задачи**, формулирани точно и в логическа последователност.

Методика на изследването

В разделът **Експериментална част**, дисертантът е изложил подробно описание на използваните в настоящия научен труд методики. Начинът им на представяне показва, че дисертационният труд е разработен чрез подходящо и правилно подбрани методи, позволяващи постигане на поставената цел и получаване на адекватен отговор на задачите, решавани в дисертационния труд.

За аналитичен контрол на активните вещества синтетичния процес са приложени хроматографски методи. Структурите на новополучените съединения са доказани чрез инструментални методи за анализ.

Методологията не поражда съмнение и е предпоставка за получаването на дискутираните по нататък коректни резултати.

Характеристика и оценка на собствените изследвания и приносите

В частта **„Резултати и дискусия“** дисертантът детайлно описва получените експериментални резултати и паралелно с това представя критичното им обсъждане, като много ясно се вижда системния подход при осъществяването на изследванията.

В изпълнение на основната цел на дисертацията – синтез на естерни производни на бексаротена, доказване на структурата на получените съединения, дисертантът получава целевите съединения като използва киселинен хлорид на изходния бексаротен, получен при взаимодействие с оксалил хлорид, и алкохоли подбрани така, че след евентуална хидролиза на продукта в организма да се освобождават нетоксични продукти.

Структурите на новите съединения са потвърдени чрез инструментални методи за анализ. Интерпретацията на спектралните данни е адекватна. Заслужава да се отбележи подробното тълкуване на данните от ATR – FTIR спектралният анализ, което показва добрите познания на докторанта в областта. Подробното представяне на резултатите от спектралните изследвания показва, че докторантът е овладял използването на инструментални методи за охарактеризиране на нови, неописани в литературата съединения. Към тази част от дисертационния труд имам една забележка – регистрирането на температурата на топене на едно съединение не може да се приема за структурно охарактеризиране.

В рамките на дисертационният труд е представен модифициран и валидиран UV-VIS спектрофотометричен метод за количествено определяне на Бексаротен. Получените резултати показват, че методът е бърз и опростен. Той е подходящ за рутинни анализи в ежедневната лабораторна практика. Характеризира се с добра линейност и висока прецизност. Пробоподготовката и времето за анализ са сравнително кратки, себестойността на метода е сравнително ниска. Авторът обаче установява, че новоразработеният и валидиран метод за количествено

определяне на Бексаротен не е подходящ за определяне на смеси на Бексаротен и негови естери.

Подобаващо внимание е обърнато на влиянието на някои ключови фактори върху хроматографското поведение на изследваните съединения с цел подбор на условия за хроматографското им разделяне от изходния бексаротен, като техен евентуален хидролизен продукт. Дисертантът прилага резултатите от това изследване при адаптирането на литературен HPLC метод. Изследването щеше да има много по-голяма тежест ако методът беше валидиран.

Доста подробно и с разбиране дисертантът описва проведените изследвания свързани с прогнозиране на потенциалната метаболитна активност на Бексаротен, новосинтезирани естери на Бексаротен и техните метаболити посредством QSAR Toolbox.

В хода на проведеното е изследване са използвани метаболитни модели за потенциалната метаболитна активност на структурата на Бексаротен и на новополучените му естери. Прилагането на такива модели позволява да се идентифицират метаболитите, да се охарактеризират физикохимичните свойства и да се определят свойствата, повлияващи биологичната активност на родителското съединение и неговите производни. За целта е приложен математичен модел за определяне на потенциалната метаболитна активност на изследваните съединения, който дава възможност за идентифициране и определяне на физикохимичните свойства на новополучените съединения, както и някои свойства, повлияващи биологичната активност на молекулите. Получените от дисертанта резултати сочат, че изследваните естери са с профил на безопасност идентичен на този на Бексаротен, тъй като не се свързват с ДНК и протеини и следователно не предизвикват мутагенност и генотоксичност. Направени са *in silico* изследвания чрез симулиране на чернодробен и кожен метаболизъм показват, че метаболитите на естерите частично се припокриват с тези на бексаротена, като най-висока метаболитна активност показва естерът E4. Същият резултат се наблюдава и при симулиране на т. нар. S9 метаболизъм.

Определянето на фармакокинетичните показатели и предсказване на възможна биологична активност чрез софтуера Molinspiration Cheminformatics сочи, че изследваните съединения отговарят на правилото на Липински (1 нарушение) и може да се очаква активност при перорално приложение, като най-вероятно биха се проявили като лиганди на ядрени рецептори. Като се имат предвид последните резултати, както и тези от прогнозирането на метаболитна активност се налага заключението, че изследваните производни не биха могли да се класифицират като предлекарства на бексаротена.

Освен тези изследвания дисертантът прогнозира ADME параметрите и токсичността на изследваните производни чрез използване на web-базирания сървър PredADMET. Резултатите показват възможна висока чревна абсорбция и

задоволителен профил на разпределение, съпроводени с относително ниска бъбречна екскреция.

Като финал на изследванията е проведен *in vivo* експеримент за определяне на общотоксичните ефекти при един от изследваните естери – този с етанол. Изследвани са биохимични чернодробни маркери (АЛАТ, АСАТ, СРП), като наблюдаваните промени в стойности сочат нисък риск от хепатотоксичност при еднократно приложение на ретиноида и неговия новосинтезиран естер, което от своя страна потвърждава прогнозите.

Изводите (7 на брой) са адекватни и коректно отразяват резултатите от проведените изследвания. Изводите са с един повече от поставените задачи, освен това в тях не се споменава нищо за разработения и валидиран UV-vis спектрофотометричен метод. За сметка на това в отделен извод (№4) се акцентира върху разработения HPLC метод за определяне на Бексаротен и негови производни самостоятелно и в смеси, който обаче не е валидиран.

V. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Във връзка с дисертационния труд са публикувани общо четири статии, като в две от тях Илиев е първи/последен автор. Към момента на изготвянето на настоящата рецензия няма забелязани цитати. Резултатите по дисертационния труд са съобщени в два научни форума.

По отношение тези наукометрични показатели, дисертантът покрива изискванията за присъждане на образователната и научна степен “Доктор”, залегнали в Правилника за развитието на академичния състав в МУ – Варна.

VI. Автореферат

Авторефератът (общ обем 108 страници) е направен според изискванията и отразява точно и в достатъчна степен съдържанието на дисертационния труд.

Препоръки, въпроси и забележки:

Трудът е написан на добър научен език, печатни и граматични грешки в текста почти няма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Като цяло дисертационния труд засяга актуална от теоретична гледна точка тема. Поставените цели и задачи са изпълнени успешно, а докторантът е усвоил и използвал редица съвременни синтетични и аналитични методи.

Дисертационният труд съдържа главно теоретични и приложни резултати, които представляват оригинален принос по отношение на получаването и изследването на синтетични ретиноиди и техни производни и отговарят на

изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за развитието на академичния състав в МУ-Варна.

Дисертационният труд показва, че докторантът маг.-фарм. Ивелин Росенов Илиев притежава необходимите теоретични знания и професионални умения и демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

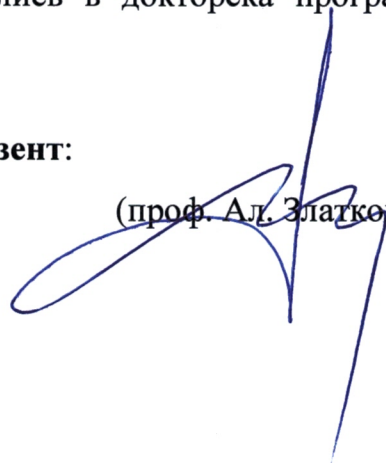
Предвид гореизложеното, давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор”** на маг.-фарм. Ивелин Росенов Илиев в докторска програма по Фармацевтична химия.

София.

31 март 2023 г.

Рецензент:

(проф. Ал. Златков, дфн)

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long vertical stroke, positioned over the printed name of the reviewer.