

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Милен Георгиев Богданов

Факултет по химия и фармация, Софийски университет „Св. Климент Охридски“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“ по:

област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика

професионално направление 4.2. Химически науки

докторска програма Органична химия

Автор: Йорданка Димитрова Сапунджиева

Тема: Синтез на хинолинови производни с потенциално антибактериално действие

Научен ръководител: доц- д-р Пламен Ангелов, ХФ към ПУ „Паисий Хилендарски“

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № Р22-265 от 04.02.2025 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определен за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема „Синтез на хинолинови производни с потенциално антибактериално действие“ 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 Йорданка Димитрова Сапунджиева – докторант в задочна форма на обучение към катедра „Органична химия“ с научен ръководител доц- д-р Пламен Ангелов, ХФ към ПУ „Паисий Хилендарски“.

Представеният от докторанта комплект материали на хартиен носител е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ, включва следните документи:

- молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд;
- автобиография в европейски формат;
- протокол от катедрения съвет, свързан с докладване на готовността за откриване на процедурата и с предварително обсъждане на дисертационния труд;
- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;

- копия на научните публикации;
- списък на забелязани цитирания;
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;

Докторант Сапунджиева е приложила 6 бр. научни публикации, както и сертификати и удостоверения за участие в научни конференции, квалификационни курсове и международни програми за обмен (Erasmus+).

2. Кратки биографични данни за докторанта

Докторант Йорданка Сапунджиева е родена на 08.12.1976 г. През 1999 г. завършва висше образование в Химическия факултет (ХФ) на ПУ като редовен студент в специалност „Химия, хранителна химия, педагогика“. В периода 2019 – 2020 г. учи в задочна форма в ОКС “Магистър” по специалност Медицинска химия, а през м. февруари 2021 г. е зачислена като редовен докторант в докторска програма „Органична химия” към катедра “Органична химия” към ХФ на ПУ. За периода 2004 г. – 2023 г. работи в Министерството на отбраната на Република България, където заема следните длъжности: Командир на охранително отделение; Командир на отделение за Ядрено, химическо и биологично разузнаване; Началник на Разчетно-информационна група. От февруари 2024 г. до сега докторант Сапунджиева работи като изследовател в ХФ на ПУ.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Проблемът с нарастващата антимикробна резистентност, която СЗО извежда като сериозна заплаха за здравето още през 2014 г., е изключително актуален и до днес. Това определя необходимостта от интензивни изследвания върху природни и синтетични биологично активни вещества с цел разработването на нови и по-ефективни антимикробни препарати. Ключов елемент от тези изследвания е разработването на нови методи за синтез и получаването на структурни аналози, които да допринесат за изясняване на връзката структура – биологично действие и съответно за получаването на по-ефективни лекарствени продукти.

Хинолиновите производни, в частност 2- и 4-хинолоните, са обект на нестихващ изследователски интерес поради доказан широк спектър от биологични активности и структурно многообразие. 2- и 4-Хинолоните са основен структурен фрагмент на редица природни съединения (алкалоиди, микробни метаболити) и синтетични вещества. **Основната цел** на дисертационния труд е разработването на нови методи за синтез на хинолинови производни, с фокус върху 4-хинолони и 2-хинолони с потенциално антибактериално действие. Използването на β -кетоамиди като изходни съединения предоставя ефективна отправна точка за син-

теза, а изпълнението на конкретните задачи има насоченост към решаване на актуалния проблем с антимикробната резистентност. В дисертационния труд се генерира ново знание чрез разширяване на обхвата на съществуващите методи за синтез на биологично активни хинолони и създаване на нови методи и съединения с висока добавена стойност. Също така, той има потенциала да послужи като отправна точка за бъдещи изследвания свързани с разработването на нови и ефективни антибактериални агенти.

4. Познание на проблема

Докторант Сапунджиева демонстрира задълбочено познание на тематиката, свързана с дисертационния труд. Литературният обзор обхваща методите за конструиране на хинолинов пръстен, синтеза и биологичната активност на 4- и 2-хинолони. Той е базиран на 137 литературни източника, като значителна част от тях са публикувани през последните 10 години. Разгледаните методи са пряко свързани с темата на дисертацията и ясно очертават приносите на докторанта, получени чрез собствени изследвания. Впечатляващо е стегнатото и компетентно изложение на цитираните източници. Докторантът умело анализира предимствата и недостатъците на различните методи, като ги категоризира като класически и съвременни, включително тези с или без участие на комплекси на преходни метали като катализатори. Това доказва, че Сапунджиева е оформен специалист в областта, способен да търси, систематизира и критично анализира научна литература.

5. Методика на изследването

Основните приноси на дисертационния труд попадат изцяло в областта на органичния синтез. За получаването на полупродуктите и целевите функционализирани съединения са ползвани познати методи и са разработени нови и оригинални такива. Получените продукти са пречистени и изолирани след провеждане на колонна хроматография и, когато е възможно, със следваща прекристализация. Синтезираните съединения са охарактеризирани надлежно с помощта на физични методи като ^1H - и ^{13}C -ЯМР, HRMS. Считаю, че избраната методика на изследване кореспондира отлично с поставените цели и задачи и позволява получените резултати да се приемат за достоверни.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационния труд е написан на 144 страници, от които въведение (2 страници), литературен обзор (50 страници) резултати и обсъждане (39 страници), експериментална част (39 страници), обобщени резултати (1 страница), списък с публикации (1 страница). Резултатите са онагледени с 12 таблици, 45 фигури и 100 схеми. Цитирани са 155 литературни източника, като 111 (71%) от тях са публикувани след 2010 г.

В изпълнение на ясно дефинираните задачи, докторант Сапунджиева първоначално синтезира бета-кетоамиди, избрани като прекурсори на съответните 2- и 4-хинолонови производни. Относно ацетокетоамидите, избран за работа е ацетоацетилащ реагент, разпадащ се до дикетен при нагряване, след което обработван със съответния амин до получаването на кетоамиди. За дълговерижните кетоамиди е използвана разработена в катедрата стратегия, използваща Вос-монозащитен етилендиамин за получаване на бета-енаминоамиди, които са податливи на алфа-ацилиране в присъствието на DMAP като катализатор. При свалянето на защитната група, последователно протича аза-михаелово присъединяване и фрагментиране, водещи до разнообразно и подходящо заместени бета-кетоамиди. Реакциите протичат с отлични добиви. Използваната стратегия позволява включването в структурата на полупродуктите на фрагменти, които обуславят биологична активност за природни продукти.

Следващата част се занимава със синтеза на 4-хинолонови производни. Фениловият фрагмент е включен чрез ацилиране на синтезираните в първата част кетоамиди. Разгледани са по-обстойно нитро- и флуор- *орто*-заместители в бензеновото ядро, което предполага и специфично енамирање на кетоамидите. С помощта на спектрални методи са изследвани свойствата на ацилираните продукти, включително разликите в химичните отмествания на характеристични сигнали и ротамерно-тавтомерните смеси в разтвор, на които е обърнато отделно внимание. Последващата циклизация включва два подетапа, в зависимост от *орто*-заместителя във фениловия пръстен. При нитрозаместените продукти е необходима първоначална редукция и последващата кондензация. Редукцията е осъществена по два алтернативни подхода. Анализ на резултатите показва наличието на неочаквани продукти – *N*-оксиди, съпътстващи първата стъпка. Условиата са оптимизирани, така че този страничен продукт да бъде избегнат, а целевото му получаване му е изследвано внимателно в последствие. При 4-флуоробензоилираните продукти, кондензацията се извършва в една стъпка, но това изисква първоначално формиране на азотния нуклеофил. Макар и предполагаемо да може да се депротонира и амидната група в съединението, оказва се възможно единствено депротонирането на енаминната N-H група да води до кондензация, което е потвърдено посредством ЯМР спектроскопия. Освен C-3 заместените 4-хинолони са синтезирани успешно при нагряване в кисела среда, редукция и последваща циклизация на *орто*-нитробензоилирани интермедиати и декарбамоилирани продукти, наподобяващи биологично активни структури. 2D ЯМР експерименти позволяват да се направи заключение за наличието на водородна връзка, стабилизираща *Z*-изомера на енаминокетоните. Наблюдаваните като неочакван продукт частично редуцирани *N*-оксиди, са обект на отделно изследване. Намерени са оптимални условия за предпочетеното им получаване и са синтезирани 14 производни

с добри добиви. За едно от синтезираните съединения е наблюдаван интересен феномен, а именно, че начинът на пречистване води до изолирането на две отделни тавтомерни форми с ясно различаващи се физични свойства, като разтворимост, температури на топене, ЯМР и ИЧ спектри. Изследван е и синтеза и на 2-бензил-4-хинолонови производни при което е изолиран неочакван продукт, за получаването на който е предположен елкторциклен механизъм. Редукцията на новополученото съединение води до четирициклени кондензирани продукти с нафталенов пръстен.

Третата част се отнася до 2-хинолоновите производни, синтеза на които разширява обсега на подхода на Кнор. Установено е, че в зависимост от защитната група предпочитано се получават различни съотношения от съединения с 5-членен или 6-членен цикли. Интересно за отбелязване е образуването на спироциклен продукт.

Последната част от дисертационния труд е върху антибактериалното действие на синтезираните вещества. Проведени са тестове срещу Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии, и гъбичния щам *C. albicans*. Установено е, че удължаването на алкиловата верига повишава активността и че *N*-хидроксид-4-хинолоните са по-активни от първоначално предпологаните хинолони. Последващия анализ срещу по-широка гама микроорганизми потвърждават тези заключения и открояват *n*-нониловия заместител като най-перспективен за следващи изследвания.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Следвайки логиката на поставените цел и задачи са синтезирани и охарактеризирани голям брой междинни и нови съединения – работа изискваща търпение, отдаденост, прецизност, значително време и усилия. В резултат от проведените изследвания докторант Сапунджиева формулира 6 приноса, които могат да бъдат резюмирани по следния начин:

1. **Разширение обсега на методологията за синтез на β -кетоамиди** – изследвани са три нови подхода за синтез на хинолинови производни, базирани на β -кетоамиди. Изходните β -кетоамиди са получени по оригинален метод, разработен в изследователската група на доц. Ангелов, като е демонстрирано неговото приложение в по-широк контекст. Това допринася за разширяване на синтетичните възможности в областта на хинолоните.

2. **Нова стратегия за синтез на 2-алкил-4-хинолони и откриване на тавтомерни форми на бактериален токсин** – за първи път е разработен метод за синтез на 2-алкил-4-хинолони, 2-алкил-4-хинолон-3-карбоксамиди и *N*-хидроксид производни чрез редуктивна циклокондензация. Този подход позволява изолирането и довежда до охарактери-

ризирането на двете тавтомерни форми на бактериалния токсин 2-нонил-4-хинолон-*N*-оксид (NQNO), което би има важно значение за разбирането на неговата биологична активност.

3. **Иновативен метод за синтез на 1,2-диалкил-4-хинолон-3-карбоксамиди** – разработен е нов метод, основан на вътрешномолекулно ароматно нуклеофилно заместване в *орто*-флуоробензоилирани енаминни интермедиати, който позволява ефективен синтез на 1,2-диалкил-4-хинолон-3-карбоксамиди като съединения с потенциално биологично действие.

4. **Синтез на природни и нови 4-хинолонови аналози с потенциал за значима биологична активност** – разработените нови методи са успешно приложени за синтез на шест природни 4-хинолона, включително метаболити на *P. aeruginosa* и растителни алкалоиди, както и на 37 нови структурни аналози с модификации в ключови позиции на пръстена.

5. **Откриване на неочакван реактивоспособност при циклизация по Кнор** – изследванията върху поведението на γ -аминофенил-функционализирани β -кетоамиди в условията на циклизация по Кнор довеждат до нови механизтични познания за реакционната способност на β -кетоамидите, тъй като показват протичането на конкурентни реакции с получаването на циклични продукти, включително индолови структури. Доказано е, че последните претърпяват последваща спироциклизация.

6. **Откриване на вещества с потенциално антибактериално действие** – биологичните изследвания на новосинтезираните 4-хинолони идентифицират няколко вещества с висока активност срещу *S. aureus*, както и едно съединение с широкоспектърно действие срещу Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии.

В обобщение, дисертационният труд значително допринася за развитието на методите за синтез на биологично активни хинолони. Разработените нови стратегии, откритието на тавтомерни форми на бактериален токсин, синтезът на природни и нови аналози, както и идентифицирането на антибактериално активни съединения, предоставят ценни научни и приложни резултати с потенциал за бъдещи изследвания в медицината и химията.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Представени са 6 научни съобщения по дисертационния труд, публикувани в специализирани и мултидисциплинарни международни списания – *Molecules* (Q1), *Beilstein J. Org. Chem.* (Q2), *MolBank* (Q4) и ChemRxiv. Приемането на статии в тези широко разпознаваеми и

признати сред световната научна общност реномирани списания допълва общото ми впечатление за високо качество и достоверност на материала по настоящата дисертация. Докторант Сапунджиева е първи автор в три от публикациите. Към момента на рецензиране не са открити цитати от други автори, което приемем за нормално, поради краткия срок от публикуване на научните трудове.

9. Лично участие на докторанта

Предвид знанието ми относно естеството на синтетичната работа, нямам никакво съмнение за личния принос на докторанта в проведените изследвания. Това се доказва и от приложените научни публикации, в които докторант Сапунджиева е първи автор.

10. Автореферат

Авторефератът е написан ясно и стегнато, отразява последователността на изследванията описани в дисертационния труд и води логично до формулиране на основните постижения на докторанта. Използван е коректен химически език, а дискутираните превръщания и получените резултати са надлежно онагледени със съответните схеми, фигури и таблици. Като критична бележка към Автореферата може да се отбележи липсата на списък с цитирана литература – задължителен реквизит към всеки самостоятелен научен труд.

11. Критични забележки и препоръки

Към дисертацията липсват съществени забележки от моя страна, но имам няколко въпроса:

- Защо *C. albicans* е избрана като единствен тестов гъбичен щам?
- На какви фактори отдавате разликите в поведението на ротамерно-тавромерните смеси в различни разтворители?
- Каква е причината да не могат да бъдат разделени препаративно съединения 32 и 33? Изследвани ли са различни условия за разделяне?
- Спиро-съединенията също биха представлявали интерес от биологична гледна точка. Каква е причината да не бъдат изследвани?

12. Лични впечатления

Не познавам лично докторанта.

13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Получените резултати предоставят редица възможности за бъдещо развитие, както от синтетична, така и от биологична гледна точка. Разработените синтетични методи могат да бъдат използвани за получаване на структурно разнообразни 4- и 2-хинолони. Изолираните и доказани неочаквани продукти също могат да послужат за разработването на методи за синтез на съответните структурни аналози.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален 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 ПУ „Паисий Хилендарски“.

Дисертационният труд показва, че докторант Йорданка Димитрова Сапунджиева притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научното направление 4.2. Химически науки като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

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 Йорданка Димитрова Сапунджиева в област на висше образование област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.2. Химически науки, докторска програма Органична химия.

03 април 2025 г.

Рецензент:

Проф. д-р Милен Георгиев Богданов