

## РЕЦЕНЗИЯ

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

на гл. ас. Мариана Стефанова Герова

в Катедра „Приложна органична химия”, Факултет по химия и фармация,

Софийски Университет „Св. Кл. Охридски”

направление “Химически науки”; шифър 4.2 - Органична химия

Тема: „Хетероциклени аналози на комбретастин А-4: синтез и биологична активност”

Научен ръководител: доц. д-р Огнян Петров

Рецензент: доц. д-р Калина Владимирова Костова, Институт по органична химия с Център по фитохимия, БАН

Мариана Стефанова Герова е родена на 26.03.1978 г. в гр. Дупница. Средното си образование завършва през 1996 г. в гимназия "Христо Ботев", гр. Дупница, профил математика. През 1996 г. постъпва в Химическия Факултет на СУ, където се дипломира като магистър в магистърска програма „Органична и аналитична химия” през 2001 г.

Дисертационният труд на Мариана Герова е изложен на 157 страници от които 2 са титулна страница и благодарности, 2 увод, 37 литературен обзор, 41 резултати и обсъждане, 61 експериментална част, 2 изводи, 8 цитирани литературни източници, които са 147 на брой и 4 съдържание и списък на използваните съкращения.

Литературният обзор е стегнат и има голяма информационна стойност. Той е структуриран в две части. Първата включва обстоен преглед на различни структурни модификации в молекулата на комбретастин А-4, които включват промяна в трите основни елемента в молекулата му, а именно модификации в пръстен **A** и **B**, както и на двойната връзка, която ги свързва. Направен е преглед на фармакологичното действие на различните производни главно спрямо туморни клетъчни линии от различен произход. Дадени са и примери относно биологичната активност на природния *транс*-стилбен ресвератрол и негови производни. Във втората част са представени по-важните реакции за получаване на стилбени, включващи реакции на карбонилни съединения с въглеродни нуклеофили, главно реакции на Wittig, Knoevenagel и Perkin освен това арилиране на стирен при използване на къплинг реакции – реакции на Heck, Suzuki и реакция на Kumada-Corriu. Направен е преглед на реакции на частична редукция на диарилалкини, както и на някои други методи за синтез на стилбени, които не лежат в основата на описаните по-горе подходи. Впечатление прави фактът, че са подбрани съвременни примери в литературата от последните десетина години.

Целта на дисертационния труд е насочен синтез на нови хетероциклени аналози на комбретастатин А-4, съдържащи в молекулата си нов фармакофорен фрагмент – бензоксазолонов или бензотиазолонов пръстен, както и изследване на антипролиферативната активност на получените нови аналози на комбретастатин А-4 и проследяване на влиянието на структурата върху фармакологичното им действие. Природният *цис*-стилбен комбретастатин А-4 принадлежи към нов клас терапевтични съединения, т. нар. антивакуларни агенти, които предизвикват необратимо разрушаване на вече изградената кръвоносна система в туморите, което води до некроза на туморните клетки и от там до спиране процеса на развитието им и на образуването на метастази. Като се има пред вид, че злокачествените заболявания заемат второ място по разпространеност и причинена смъртност, поставената цел на дисертацията е изключително актуална и перспективна.

Освен включването на бензоксазолонов или бензотиазолонов цикъл вместо пръстен **V** подходът за синтез на нови производни на комбретастатин А-4 включва и получаването на съединения, които съдържат метоксифенилов фрагмент **A** с различен брой и позиция на метоксигрупите. Реакцията на Wittig е избрана като ключов етап за изграждането на стилбеновия фрагмент. Методът е подбран от дисертантката поради високите добиви и достъпните изходни съединения, въпреки че води до смес от  $\pi$ -диастереоизомери, което тя е превърнала в предимство, тъй като изолирането на *транс*-продукти разкрива възможност за получаване на аналози на природния ресвератрол.

В ходът на работата са синтезирани нов клас хетероциклени аналози на комбретастатин А-4, като метоксистироловият фрагмент е въведен в четирите възможни позиции на бензоксазолоновия пръстен и в позиции 4, 5 и 6 на бензотиазолона. Синтезът на необходимите изходни 4-, 5-, 6- или 7-метилбензоксазолони и на 4-, 5- или 6-метилбензотиазолони, както и на съответните фосфониеви соли са синтезирани от докторантката в няколкостадийни (понякога 4 или 5 стъпки) реакции, което изисква много труд, усилия и синтетични умения. Само специалист, който е работил химичен синтез може да оцени свързаните с това трудности и огромната по обем работа. За получаване на целевите стилбенови производни е използван модифициран метод на Wittig, а именно калиев карбонат като база и 18-корона-6 като междуфазов катализатор, при което е достигната висока *Z*-стереоселективност ( $E/Z = 1:3$ ). Част от получените нови хетероциклени аналози на комбретастатин А-4 са подложени на деметилиране с  $BBr_3$ , при което се получават нови хетероциклени аналози на природния ресвератрол. В резултат на извършената синтетична работа са синтезирани 68 нови стилбенови производни, съдържащи бензоксазолонов или бензотиазолонов пръстен. Структурата на всички съединения е потвърдена с елементарен анализ, ИЧ- и  $^1H$  ЯМР-спектроскопия, а на едно съединение е направен рентгеноструктурен

анализ. Голяма част от получените нови аналози са подложени на фармакологични изследвания върху туморни клетки от различен произход. Получените резултати показват, че присъствието на 3 метокси групи в пръстен А е предпоставка за най-висока цитотоксична активност. Позицията в която е въведен триметоксистириловия фрагмент също е от значение, най-силен ефект се наблюдава при свързване на хетероцикъла в 6-та позиция.

Друга основна цел на дисертационния труд е синтезата и провеждането на изследвания за биологична активност на бензофенонови аналози на комбретастатин А-4. На практика това означава замяна на етиленовия мост в молекулата на комбретастатин А-4 с карбонилна група, която по литературни данни осигурява квази „*cis*”-ориентация между ароматните ядра. Поради тази причина бензофеноните са широко изследвани като потенциални противотуморни средства. Синтезирани са серия метокси- и хидроксизаместени 5-бензоил-2(3*H*)-бензотиазолони, които са изследвани като потенциални средства за цитопротекция вследствие на високата им антиоксидантна активност.

И не на последно място трябва да се изтъкне, че успешно са разработени два нови подхода за насочен синтез на комбретастатин А-4, синтезиран за пръв път от Pettit през 1995 г. При първият вместо класическата реакция на Wittig са приложени условията на Boden, а именно калиев карбонат като база, а не *n*-бутиллитий, който изисква провеждане на реакциите в инертна атмосфера и сухи разтворители и 18-корона-6 като междуфазов катализатор, като последният е заменен със значително по-евтиния и нетоксичен полиетиленгликол 400 (ПЕГ 400). Сред най-важните предимства на предложената модифицирана процедура са меките реакционни условия, лесното провеждане и високите добиви, което на практика означава, че този подход може да се използва като алтернатива на по-рано разработени и докладвани синтетични пътища. Вторият метод се основава на прегрупирането на Colvin на фенстатин до диарилалкин и неговата частична редукция, като след използване на различни катализатори, най-подходящ се оказва катализаторът на Линдлар, с който са получени изключителни високи добиви на комбретастатин А-4.

В резултат на проведените не малко синтези са получени 170 съединения, от които 123 неописани в литературата. Това говори за проявена упоритост и настойчивост при изпълнение на задачите и за извършена съществена по обем работа, която далеч надхвърля изискванията за една много добра дисертация.

Авторефератът към дисертационния труд отразява точно и ясно поставените задачи и постигнатите резултати и е в съответствие с текста на дисертационния труд.

Част от постигнатите в дисертацията резултати са отразени в 3 публикации, 2 от които в авторитетните за областта списания с импакт фактор, а именно *Eur. J. Med. Chem.* от 2009 г. и в *Synthesis* от 2011. Една работа е публикувана в българско списание, а именно *Compt.*

*rend. Acad. Bulg. Sci.* от 2011 г. което отговаря на изискванията за присъждане на тази образователна и научна степен. По тези публикации са забелязани 6 цитата. Освен това докторантката има 6 участия в научни конференции по темата на дисертацията - 4 в България, една в Люксембург и една във Франция, което показва желание за популяризиране на провежданите изследвания сред международната научна общност. Извън настоящата дисертация докторантката е съавтор в още 7 научни публикации от 2007 г. до днес.

Могат да се направят и някои несъществени критични бележки, които не се отразяват на общото много добро впечатление от работата, а именно:

- Бих препоръчала имената на чуждите автори да се дават само на латиница и да не се изписват и на кирилица, защото има опасност от грешки при транскрипцията на български език. Напр. на стр. 17 Oshumi е изписан като „Осхуми”; на стр. 40 Lawrence е изписан като „Лауренс”; на стр. 33 Zapf е изписан като „Запф” и др.
- Бих препоръчала да не се използва понятието „стайна температура”, а да се дават точните градуси, когато една реакция се провежда без нагряване или охлаждане, защото, т.н. „стайната температура” може да варира в интервал от 15-20 градуса.
- На места се забелязват някои пунктуални или граматически грешки, но те не са от съществено значение

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд представя гл. ас. Мариана Стефанова Герова като изграден учен в областта на органичния синтез, като нейните интереси не се ограничават само със синтезата на целевите структури, а и с изследване на техните биологични свойства, както и с търсенето на зависимост между структура и биологична активност. Дисертацията отговаря напълно на критериите, които се изискват за образователната и научна степен „доктор”. Въз основа на изложеното дотук, с пълна убеденост препоръчвам на Уважаемите членове на Научното жури да присъдят образователната и научна степен „Доктор” на Мариана Стефанова Герова.

15.07.2012 г.

София

Рецензент:



/доц. д-р Калина Вл. Костова/