

Авторска справка приноси

(резюме на научните трудове)

11 януари

2018

доц. д-р Милен Георгиев Богданов

За участие в конкурс за заемане на академичната длъжност професор по професионално направление 4.2. Химически науки /Органична химия – Физична органична химия/, обявен в ДВ бр. 91/14.11.2017 г.

За целия период на преподавателска и изследователска дейност (2004-2017 г.) доц. М. Богданов е автор и съавтор на 57 научни трудове (Списък I), цитирани 277 пъти. За изготвянето на настоящата справка кандидатът използва 25 статии (№ 1-25 от Списък II), публикувани в периода 2012-2017 г., след заемане на академичната длъжност „Доцент” (2011 г.). М. Богданов е водещ автор в проведените изследвания. Като такъв, кандидатът осигурява финансиране, разработва цялостната концепция на изследванията, участва в провеждане на експериментите, има основна роля в подготовката на ръкописите и осигурява комуникация между отделните звена при участие на екипи от различни институции. От представените 25 научни съобщения, 19 (76%) са публикувани в индексирани от SCOPUS или Web of Science издания с общ *impact factor* 34.538. Към момента на подаване на документите са регистрирани 154 цитата върху 14 от публикациите представени за конкурса, като 13 от тях са с *response factor* $\tau_1 \leq 1$ [год]. Съгласно изискванията за заемане на академичната длъжност „Професор” във ФХФ към СУ е приложен и Хабилитационен труд (№26 от Списък II), който обобщава 16 научни публикации. Част от представените изследвания са произлезли в резултат от разработването на 6 дипломни работи и 5 дисертации, изработени под ръководството на кандидата, и са популяризирани пред научната общност с 3 пленарни доклада, 39 доклада и 28 постерни съобщения (31 от тях представени лично от кандидата) на 40 международни и национални научни конференции (Списък III).

Таблица 1. Съответствие с препоръчителните критерии на Факултет по химия и фармация при Софийски университет „Св. Климент Охридски” за заемане на академичната длъжност професор.

Критерий	Изискване*	Кандидат*
Общ брой научни трудове	40 (30)	57 (45)
Научни статии след придобиване на степен „доктор”	35 (25)	52 (42)
Научни статии след спечелване на конкурс за „доцент”	15 (10)	27 (21)
Цитати	100	277 (>220)
Научна степен „доктор на науките” или хабилитационен труд	Хабилитационен труд (16 [§])	
Участие в научни конференции		107
Участие в научно-изследователски проекти		13
Ръководство на докторанти		6
Ръководство на дипломанти		12
Средна годишна аудиторна заетост за периода 2012-2017 г.	270	408

*В скоби са отбелязани статиите в списания индексирани в Web of Science и/или SCOPUS.

§ Брой публикации включени в хабилитационния труд.

Справката очертава две основни научни направления:

1. Синтез на органични съединения с потенциална биологична активност – тематиката е част от традиционните за Групата по хетероциклени съединения към ФХФ на СУ изследвания върху реакции на СН-киселини със съединения, съдържащи полярни двойни връзки и следващи превръщания.

2. Приложение на йонни течности като алтернативни разтворители в процеси на твърдо-течна и течна-течна екстракция на природни съединения с добавена стойност – изследванията в това поле са изключително актуални в световен мащаб, като доц. М. Богданов има съществена роля за развитието на това ново за България направление.

1. | *Синтез на органични съединения с потенциална биологична активност*

1.1. Предвид интересните биологични свойства на хетероциклените съединения от групата на лактамите и лактоните, както и на широкото им разпространение в природата, в ръководената понастоящем от доц. М. Богданов научно-изследователска група се провеждат интензивни изследвания върху синтеза на съединения от посочените групи. Чрез разнообразни реакции на нуклеофилно присъединяване и циклоприсъединяване към полярни и активирани двойни връзки са разработени диастереоселективни методи за получаване на биологично активни тетрахидроизохинолинонови (лактами) и изокумаринови (лактони) производни (статии № 37-55 от Списък I). Предварителни проучвания върху биологичната активност на тези групи съединения дават основание за провеждане на насочен синтез на оптимизирани структури с повишена активност. В тази връзка е направен обстоен преглед на научната литература за приложението на реакцията между хомофталови анхидриди и имини [4] – реакция предложена за първи път от Хаимова и сътрудници (Tetrahedron, 1977) и наложила се през последните 40 години като удобен метод за синтез на разнообразно заместени хетероциклени съединения съдържащи изохинолинонов фрагмент в структурата си. В друга статия е направен преглед на методите за синтез на 3-алкил и 3-алкинилзаместени изокумарини и 3,4-дихидроизокумарини [5]. Направеното обобщение определи посоката на следващите изследвания, а именно проучване на възможности за създаване на методи за синтез на нови съединения с очаквана биологична активност.

1.2. Разработен е лесен за изпълнение метод за синтез на полихидроксизаместени стилбени посредством едностъпкова реакция използваща лесно достъпни изходни суровини – хомофталови анхидриди и метоксибензалдехиди. [9] Показано е, че тази нова процедура позволява получаване на серия от хомолози, различаващи се по броя и местоположението на хидроксилните групи в стилбеновия фрагмент, с добри добиви, при стандартни условия и за кратки реакционни времена. Синтезираните съединения могат да се разглеждат като молекулни хибриди изградени от два независими фармакофорни фрагмента – структурни аналози на природни фенолни киселини, като галова, протокатехинова, кафеена, и др. Показано е, че включеният фрагмент от канелена киселина в структурата на целевите съединения определя *цис*-ориентация на стилбеновия скелет и възпрепятства следваща изомеризация по отношение на мостовата C=C връзка. Конфигурацията на получените съединения е доказана еднозначно с помощта на ^{13}C NMR и 2D NOESY експерименти. Проведените първоначални изследвания за установяване на биологичната активност на синтезираните съединения показват, че те притежават тройно биологично действие, тъй като проявяват едновременно радикал-улавящи свойства, противоположна активност и потенциал за инхибиране на монофенолазната активност на ензима тирозиназа. Също така е установено, че комбинацията от два различни и независими един от друг фармакофорни фрагмента в една ковалентно свързана молекула предизвиква синергичен ефект, който се изразява в повишена активност на хибридните молекули в сравнение с тези на отделните компоненти.

С цел детайлно изучаване влиянието на отделните фрагменти върху радикал-улавящите свойства, извеждане на връзката структура – активност и изясняване на механизма на действие на *цис*-ограничените стилбеноидни хибриди, бе синтезирана по-завършена серия от структурни аналози. [14] Проведеният *in vitro* скрининг показва, че синтезираните съединения са ефективни радикал-улавящи агенти по отношение на 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил радикали (DPPH $^{\bullet}$), хидроксилни радикали (HO $^{\bullet}$) и супероксидни анион радикали (O $_2^{\bullet-}$), като демонстрират по-висока активност от добре познати природни антиоксиданти. Въз основа на проведения SAR анализ и DFT изчисления е установено, че разположението на хидроксилните групи в базовия въглероден скелет е от по-съществено значение за висока активност, отколкото техния брой, по отношение на DPPH $^{\bullet}$ и HO $^{\bullet}$, а основен фактор определящ тази активност е наличието на поне 1 катехолов фрагмент, независимо от неговата позиция в ароматните пръстени. В допълнение е показано, че двата фармакофорни фрагмента действат независимо един от друг, и че атаката на свободния радикал върху улавящия агент се осъществява в ядрото, което осигурява по-дълга спрегната система. Също така, пирогалоловия фрагмент се оказва определящ за висока активност по

отношение на супероксиден радикал анион ($O_2^{\bullet-}$). Получените резултати показват липса на корелации между активностите получени спрямо различните свободни радикали, което позволява да се направи обобщения извод, че улавянето на свободни радикали от различен тип се реализира по характерни механизми, и че липсата на активност по отношение на DPPH радикал не означава, че изследваните съединения не притежават антиоксидантна активност и обратното.

- 1.3. Разработена е нова едностъпкова процедура за синтез на полихидроксизаместени 3-арилкумарини от хомофталови анхидриди и 2-метоксибензалдехида. [10,16] Описаният метод е лесен за изпълнение и дава възможност целевите съединения да бъдат получени за кратко време и с отлични добиви. В допълнение, продуктите се получават с висока чистота (>98%) посредством лесна за изпълнение процедура по разработване на реакционните смеси. Въз основа на два изолирани интермедиата е предложен и реакционен механизъм, който се състои от BBr_3 предизвикана каскада от реакции: деметилиране \rightarrow отваряне на лактонов пръстен \rightarrow елиминиране \rightarrow изомеризация \rightarrow лактонизация, на *in situ* получени 3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксилни киселини. Разработената реакция е първия пример в литературата за трансформация на дихидроизокумарини в кумарини, и позволи синтеза на хомоложна серия от разнообразно заместени аналози с потенциална биологична активност. За получените съединения е установена висока радикал-улавяща активност срещу DPPH $^{\bullet}$, NO^{\bullet} и $O_2^{\bullet-}$, и е показано, че активността по отношение на отделните радикали зависи по-скоро от разположението на хидроксилните групи в кумариновото ядро, отколкото от техния брой, като съществен принос има и кумариновият скелет, който осигурява по-добра стабилизация на образуваните радикали и повишава активността на съединенията в сравнение с използваните референти.

Представените в т. 1.2 и 1.3 обобщени резултати показват, че синтеза на съединения проявяващи активности от различен характер, включително антиоксидантна активност, може да послужи като платформа за създаването на нови, по-ефективни антибиотици, способни да убиват или задържат растежа на микроорганизмите навлезли в организма-приемник и да бъдат в състояние да улавят свободни радикали поради наличието на подходящи функционални групи в структурата си. Проявената радикал-улавяща способност би могла да предотврати развиването на резистентност към тези съединения от страна на микроорганизмите при продължителната им употреба, което предполага прилаганите в лекарствената терапия антибиотици да са с по-висока ефективност и тяхното използване да е в по-малки и по-ниско токсични дози.

2. Приложение на йонни течности като алтернативни разтворители в процеси на твърдо-течна и течно-течна екстракция на природни съединения с добавена стойност

- 2.1. Проведени са детайлни изследвания на реакция на кватернизация между *N*-метилимидазол и халогеноалкани – основна реакция за получаване на йонни течности (ЙТ) с халогениден анион. [Керемедчиева, 2017] Установени са оптимални реакционни условия (разтворител, температура, съотношение на реагентите) за гладко протичане на взаимодействието и минимизиране на количеството странични продукти. За получаването на ЙТ с висока чистота е конструирана апаратура за течно–течна екстракция, приложението на която намалява многократно обема на вложения органичен разтворител в този процес. [23] В отделно проучване е изследвана ефективността на различни органични разтворители за пречистването на ЙТ от нереагирал *N*-метилимидазол. [24] Ефективността на процеса е изследвана по отношение на фактори като температура, полярност на разтворителите, концентрация на *N*-метилимидазол и съдържанието на вода. Изведени са емпирични зависимости, които позволяват избор на подходящ разтворител и условия за получаване на ЙТ с висока чистота без прилагане на характерното продължително нагриване под дълбок вакуум.
- 2.2. Изследвани са различни условия за реакции на анионен обмен с цел получаване на серии от ЙТ с различни физикохимични свойства. Установено е, че употребата на ЙТ с хлориден анион трябва да бъде предпочетена, тъй като аналогичната трансформация с бромиди не протича с пълна обмяна на йоните. В резултат са синтезирани ЙТ съдържащи биосъвместими и с ниска токсичност аниони (захаринатен и ацесулфаматен), които са вложени като екстрагенти в процеси на течно-твърда [3,8,13,18,20,22] и течно-течна екстракция [7,11,15,17,18,19,21,25] на природни съединения.
- 2.3. ЙТ с различни характеристики са използвани като екстрагенти за ефективното извличане на биологично активни съединения от растителен материал от жълт мак (*Glaucium flavum* Cr.), [3] блатно кокиче (*Leucojum aestivum* L.) [20] и валериана (*Valeriana officinalis* L.) [22]. Детайлно е проучено влиянието на вида на аниона, вида на катиона, дължината на алкиловата верига в катиона, концентарцията на ЙТ, температурата, екстракционното време, размера на екстактираните частици, и тегловното отношение растителен материал/екстрагент върху екстактиращата способност на използваните ЙТ. Установени са емпирични зависимости за влиянието на отделните фактори върху добива на целевите съединения. Проведен е сравнителен анализ за екстактиращата способност на ЙТ и молекулни разтворители. Установено е, че ЙТ осигуряват високи добиви за по-кратко време в сравнение с конвенционалните методи за екстракция. Намерени са оптимални условия за количествена

екстракция в една технологична стъпка и е показано, че свежи порции от растителен материал могат да се екстрахират последователно с една и съща ЙТ. [13] Този подход намалява нуждите на процеса, като се избягва стъпката на рециклиране на ЙТ след всяка екстракция и позволява акумулирането на целевите съединения в екстракционната система без достигане на насищане, с което се намалява и общото съотношение растителен материал/екстрагент, но без загуба на ефективност.

- 2.4. За първи път е проведено задълбочено кинетично изследване върху процеса на екстракция на растителен материал с ЙТ и са изчислени параметри като скорост на екстракция и активираща енергия на екстракция. [8] Показано е, че екстракцията с ЙТ е температурно независима и че това осигурява изтощаване на растителния материал за кратки времена дори и при стандартни условия. На база получените резултати, е предложен подробен механизъм, който отразява взаимодействията вещество-разтворител, вещество-матрица и матрица-разтворител при всяка стъпка от екстракционния процес. Отличното представяне на ЙТ е отдадено на способността ѝ, въпреки че е във воден разтвор, не само по-добре да разтваря целевото съединение, но и да разрушава клетъчните тъкани и да модифицира пропускливостта на матрицата чрез реализиране на водородни връзки с въглехидратните фрагменти, формиращи клетъчните стени.
- 2.5. На база оптимизирани екстракционни условия са разработени и валидирани нови методи за качествен и количествен анализ на съдържанието на биологично активни вещества в растителен материал от жълт мак, [3] блатно кокиче [20] и валериана [22]. Пробоподготовката се базира на екстракция с водни разтвори на ЙТ, последвана от директен HPLC-анализ. Разработените методи са лесни за изпълнение, като същевременно изискват значително по-опростена лабораторна апаратура и дават възможност за пълно регенериране на вложения екстрагент, което минимизира количеството на отпадни продукти.
- 2.6. Разработена е процедура за обратна екстракция на глауцин от йонно-течностен екстракт. Целевото съединение е изолирано в кристална форма като бромоводородна сол – формата, под която глауцин се влага в лекарствени продукти. Разработена е процедура за пречистване и количествено регенериране на вложената ЙТ и е показано, че същата може да се използва в повторен цикъл на екстракция на глауцин от свеж растителен материал. [13]
- 2.7. Изследвана е алтернативна възможност за едновременно възстановяване на глауцин от обогатен екстракт и отделяне на вложената ЙТ с помощта на водни двуфазни системи. [18] Установено е, че целевият алкалоид преминава преимуществено в богатата на ЙТ фаза независимо от вида на използваната космотропна сол, нейната концентрация или рН на

средата, и че разпределението му в тази фаза се благоприятства при алкално рН. Получените резултати са използвани за разработването на екстракционна процедура, осигуряваща едновременно възстановяване на глауцин, рециклиране на вложената ЙТ и отстраняване на водата в една технологична стъпка.

- 2.8. Описаният в т.2.7 подход послужи като платформа за разработването на лесен за изпълнение и щадящ околната среда метод за прекоцентриране и следващо количествено определяне на ацетилхолинестерните инхибитори галантамин, *N*-десметилгалантамин и унгиминорин от водни разтвори. [25] Намерени са оптимални условия за количествено разпределение на целевите съединения в богатата на ЙТ фаза, което осигурява тяхното едновременно разделяне, пречистване и концентриране от компонентите на матрицата и позволява определянето им в концентрации два порядъка по-ниски от границите на количествено определяне на използвания аналитичен метод.
- 2.9. Направен е обстоен преглед на употребата на водни двуфазни системи като алтернатива на конвенционалната течно-течна екстракция за извличането на фенолни съединения от природни екстракти. [2] Подробно са дискутирани факторите, които влияят върху ефективността на екстракцията (вид и концентрация на неорганична сол, тип и концентрация на IL, стойност на рН и температура). Изведени са емпирични зависимости и са очертани насоки за подобряване на екстракционните добиви. Проведени са изследвания върху възможността за екстракция, разделяне и изолиране на смес от природни кумаринови производни посредством формиране на водни двуфазни системи. [19] В резултат е установено, че разпределението на изследваните съединения може да бъде контролирано с промяна на рН на двуфазните системи.
- 2.10. Проведен е сравнителен анализ върху поведението на хидрофобни ЙТ, базирани на имидазолиев и фосфониеви катиони при екстракция на млечна киселина. [7,11,15,] Детайлно е изучен ефекта на рН на средата, значим фактор по отношение на състоянието на млечната киселина във водната среда, както и ефекта на добавки с подчертан изсолващ ефект. Предложен е и механизъм на екстракцията, предполагащ формирането на характерна вторична структура, реализираща се в наситените с вода хидрофобни ЙТ. [11] Високият екстракционен капацитет на амфифилните ЙТ е отдаден на способността на образуваните полярни канали, разделени от неполярни области, да поглъщат и освобождават комплекси вода-млечна киселина при определени условия. Проведените изследвания с фосфониевите ЙТ показват, че някои от тях притежава по-добра екстракционна способност. [15]

- 2.11. Обект на изследване бе и пречистването на ферментационна α -амилаза чрез двуфазни системи, базирани на нискотоксични йонни течности – имидазолиеве и фосфониеви захаринати. [17,21] В резултат от изследванията са намерени подходящите условия във водния източник и в регенериращия разтвор (pH, буферни концентрации) за провеждането на права и обратна екстракция на α -амилаза с $[C_8C_1im][Sac]$ и получаването на ензима концентриран и пречистен от други белтъци и пигменти в рафината или в ре-екстракта.
- 2.12. Проведено е изследване за установяване влиянието на диалкилзаместени имидазолиеве захаринати и ацесулфамати върху поведението на липази от *C. rugosa* и *R. delemar*. [12] Показано е, че ЙТ повлияват каталитичната активност и стабилност на ензимите вследствие на предизвикана промяна в тяхната вторична структура, и че влиянието на катиона е доминиращо. Също така са установени зависимости по отношение на дължината на алкиловата верига в катиона, които показват, че стабилността на ензимите се повлиява положително от ЙТ с късоверижни алкилови заместители.
- 2.13. В редица статии и патенти е показано, че ЙТ могат да бъдат приложени успешно като заместители на конвенционалните органични разтворители в добре установени процеси, а тяхното приложение като екстрагенти за извличане на природни продукти от растителни вещества е интензивно развиваща се тематика едва през последните 5 години. През 2014 г. е направен изчерпателен преглед на последните постижения в това поле. [1] Чрез критичен анализ на приликите и разликите в свойствата на ЙТ и молекулните разтворители са обсъдени важни фактори, влияещи върху ефективността на екстракцията, и са направени обобщени изводи относно предимствата и недостатъците на употребата на ЙТ в процеса на екстракция на природни вещества от растителни матрици.