

## АВТОРСКА СПРАВКА ЗА ПРИНОСНИЯ ХАРАКТЕР НА ТРУДОВЕТЕ

на гл. ас. д-р Меглена Илиева Къндинска-Василева  
Катедра „Органична химия и фармакогнозия“,  
Факултет по химия и фармация, СУ "Св. Климент Охридски"

за участие в конкурс за "Доцент" по професионално направление 4.2. Химически науки (Органична химия – Органичен синтез и анализ), обявен в ДВ, бр. 50 от 15.06.2018 г.

Авторската справка е направена върху 23 научни публикации на кандидата, излезли от печат, от които 17 са в реферирани и индексирани списания с общ импакт фактор (IF) 10.051, 2 са в реферирани от SCOPUS списания без IF към момента на публикуване, 2 в реферирано от Chemical Abstracts международно списание без IF и 2 – в нереперирано списание. Четири от публикациите [1,3,5,6]\* са използвани за придобиване на образователната и научна степен "доктор". Включването им в настоящата справка е обосновано от продължаването на изследванията по съответната тематика и след защита на дисертационния труд. Към момента на подаване на документите за участие в конкурса са забелязани общо 32 цитата (23 по SCOPUS, 1 по Web of Science) с h-индекс 3. Част от получените резултати са включени в 5 дипломни работи и са представени на 16 международни и национални научни форуми.

Справката очертава две основни направления на научните изследвания:

1. Синтез на нови потенциални биологично активни съединения и провеждане на стереохимични, кристалографски и хроматографски изследвания. Това научно направление е традиционно за Катедрата по органична химия и фармакогнозия на Факултета по химия и фармация при СУ „Св. Кл. Охридски“ и включва изучаването на реакции на СН-кисели анхидриди и съединения, съдържащи активирани двойни връзки, както и възможности за следващи трансформации на получените продукти. Работата си по него, д-р Меглена Къндинска започва през 1998 г., като дипломант към катедрата.
2. Синтез на функционални багрила с оглед приложението им в оптоелектрониката или за целите на биомедицинския анализ. Интересът на д-р Къндинска към тази научна област датира от 2012-2013 г., след специализацията ѝ в Института по полимерни изследвания

\*Номерацията на публикациите съответства на списъка с научните трудове на кандидата.

„Макс Планк“, гр. Майнц, Германия, където работата ѝ е свързана с получаването на багрилни съединения с потенциално високотехнологично приложение.

Основните приноси от научната дейност на гл. ас. д-р Меглена Илиева Къндинска-Василева могат да бъдат изложени накратко по следния начин:

**I. Приноси в областта на органичния синтез, структурния и хроматографски анализ на полизаместени хетероциклени съединения с потенциална биологична активност.**[1-14, 24,25]

Синтезирани са голям брой полизаместени хетероциклени съединения, съдържащи изохинолинов или изохроманов фрагмент и различни фармакофорни групи в структурата си чрез използването на разнообразни синтетични методи. Голяма част от получените изохинолинови производни са предоставени за изследване на връзката между структурата им и биологичната им активност от международна фармацевтична компания. Съвместно с колеги от Биологическия факултет към СУ „Св. Кл. Охридски“ са проведени първоначални тестове за установяване на антимикробните свойства на някои от синтезираните 3,4-дихидроизокумарини, а част от съединенията, с включени изохинолинов и аминокиселинен фрагменти в структурата им, са предоставени за изпитване на АСЕ-инхибиторната им активност в Института по невробиология на БАН. Биологичните изследванията на съединенията имат за цел намирането на подходящи структури, с чието по-нататъшно модифициране да се постигнат по-добри свойства по отношение на очакваната активност. Проведени са стереохимични изследвания на избрани изохинолинови и изохроманови производни за установяване на предпочетените им конформации в разтвор и в твърдо състояние в сътрудничество с колеги от Erciyes University, гр. Кайсери, Турция.

I.1. Разширени са границите на приложимост на реакцията между хомофталов анхидрид и съединения, съдържащи двойна C=N връзка с използването на нови и неописани в литературата имини [5,6,14,24]. С вариране на реакционните условия е изследван стереохимичният ход на взаимодействието анхидрид-имин и е постигната висока диастереоселективност по отношение на *транс*-изомерите на целевите 2,3-дизаместени-1-оксо-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-4-карбоксилни киселини. Наличието на два

стереогенни центъра в таргетните киселини определя възможността те да съществуват като двойка диастереомери – *цис* и *транс*.

За първи път взаимодействието между хомофталов анхидрид и имин е изследвано в среда от пиридин [5,14,24]. Установено е, че в тези условия реакцията е високо диастереоселективна и води до получаване на съответната *транс*-изомерна киселина с висок добив. Протичането на странични реакции, затрудняващи пречистването на реакционните смеси и понижаващи значително добивите на целевите съединения, е сведено до минимум. Високата диастереоселективност на реакцията в тези реакционни условия и минимизирането на нежеланите продукти е отдадено на основните свойства на пиридина.

Относителната конфигурация при новите стереогенни центрове, въведени в структурата на новосинтезираните 2,3-дизаместени-1-оксо-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-4-карбоксилни киселини е определена въз основа на данните от  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектрите им за стойностите на константата на спин-спиново взаимодействие  $^3J_{3,4}$  между протоните при тези центрове. В един от случаите конфигурацията и конформацията на новополучената киселина е потвърдена и чрез рентгеноструктурен анализ [6].

1.2. С прилагането на различни синтетични стратегии, карбоксилната група в различни 2,3-дизаместени 1-оксо-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-4-карбоксилни киселини успешно е трансформирана до получаването на разнообразни нови 2,3,4-тризаместени тетраhydroизохинолинови производни с потенциална биологична активност [5,9,11-13,24]. С отделни ключови представители на синтезираните тетраhydroизохинолинони (естери и тозилат) са проведени и задълбочени структурни кристалографски изследвания. Установено е, че съединенията са конформационно неподвижни, като в разтвор и в твърда фаза конформацията им е еднаква – със синклинално разположение на протоните в 3-та и 4-та позиция на дихидроизохинолиновия пръстен [9,11,12]. Успешно е синтезиран 1-оксо-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-4-карбоксамид, съдържащ хирален аминокиселинен остатък в структурата си [13,25]. Въвеждането на трети стереогенен център в молекулата на съединението позволява то да бъде изолирано като два отделни диастереоизомера, изследването и сравняването на биологичните свойства, на които, би дало важна информация за влиянието на конфигурацията на такъв тип изохинолинови производни върху проявяваната от тях активност. В чист вид е получен единият от двата възможни диастереомера, съответстващи на синтезирания *транс*-4-карбоксамид – (*S*)-метил 2-

[(3*R*,4*R*)-2-бензил-3-(2-фурил)-1-оксо-1,2,3,4-тетрахидроизохиноли-4-карбоксамид]-3-(1*H*-индол-3-ил)пропаноат и детайлно е охарактеризиран [13].

I.3. Успешно е осъществено взаимодействието между хомофталов анхидрид и хетероароматни алдехиди в присъствие на различни базични катализатори до получаване на съответните 3-хетероарилзаместени 3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксилни киселини [3,7,24,25]. Последните съдържат в структурата си два стереогенни центъра, поради което могат да съществуват като два диастереомера – *цис*- и *транс*.

В случаите на използване на изомерни пиридинкарбалдехиди е установено, че реакцията между хомофталов анхидрид и 3- или 4-пиридинкарбалдехид при стайна температура, и използване на пиридин като разтворител и катализатор за провеждането ѝ, води до получаване на съответните *транс*-изомерни киселини [7]. Резултатът от прилагането на същите реакционни условия в случая на 2-пиридинкарбалдехид е сложна и трудна за разделяне смес от продукти, и целевата киселина не е изолирана. *Цис*-3-пиридин-2-ил-3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксилна киселина е синтезирана успешно с висок добив в среда от бензен при стайна температура и катализатор безв. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> [7].

Относителната конфигурация на 3-хетероарилзаместените 3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксилни киселини е определена въз основа на данните от техните <sup>1</sup>H-ЯМР-спектри на база стойността на вициналната константа на спин-спиново взаимодействие <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> между характеристичните протони Н-3 и Н-4.

Синтезираните 3-хетероарилзаместени 3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксилни киселини са включени в по-голяма серия киселини от същия тип, с която са проведени предварителни изследвания за установяване и сравняване на антимикробните свойства на отделните представители [7]. Установено е, че тестваните съединения са активни в много по-голяма степен спрямо бактериалните, отколкото към гъбните щамове, използвани в изследването. Антибактериалната активност на киселините не зависи от тяхната конфигурация и не се влияе от наличието в 3-та позиция на хетероариллов заместител, въведен вместо ариллов. Като цяло, никое от съединенията, включени в теста не показва, активност, съизмерима с тази на използвания като стандарт Penicillin G.

I.4. Изследвана е възможността за превръщане на 3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксилни киселини в потенциални биоактивни съединения, като различни

представители са трансформирани в съответни амиди с включени разнообразни фармакофорни групи в структурата им [3,10]. Синтезирани са 3-арил(хетероарил)-3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксамиди както с *транс*-, така и с *цис*-конфигурация. Като част от стереохимичните ни изследвания на съединения от такъв тип [3,8,10], относителната конфигурация на новосинтезираните 4-карбоксамиди е определена въз основа на данните от техните  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектри на база стойността на вициналната константа на спин-спиново взаимодействие  $^3J_{3,4}$  между характеристичните протони Н-3 и Н-4.

Получените 3-арил(хетероарил)-3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксамиди са представени също за изследване на техните антимикробни свойства [10]. Резултатите от проведения скрининг показват, че както и при изходните киселини, антибактериалната активност на карбоксамидите е по-висока, отколкото противогъбичната. Антибактериалните свойства на съединенията се повлияват в по-голяма степен от конфигурацията им, отколкото от промяната в заместителите на 3-то и 4-то място. Като цяло, карбоксамидите с *цис*-конфигурация са по-активни срещу някои от използваните в теста щамове, отколкото тези с *транс*-конфигурация и изследването на антибактериалната активност на други съединения с *цис*-конфигурация е от интерес. Като цяло, тестваните съединения не показват по-висока активност от тази на използвания стандарт Penicillin G. Изключение правят 3-пиридинилзаместените производни (за разлика от изходните киселини), които се характеризират със зона на инхибиране по отношение на някои щамове, сравнима с тази на стандарта. 3-Пиридинилзаместени карбоксамиди са и единствените представители от тестваната серия, които показват противогъбична активност в концентрации, с порядък по-ниски от тези на останалите съединения, проявили такава.

I.5. Посредством теоретично предсказани подвижни фази (без необходимост от предварителни опити) е осъществено аналитичното разделяне посредством тънкослойна хроматография върху различни адсорбенти на изохонолинови и изокумаринови производни със сложна структура, както и на моделни *Z*- и *E*- съединения [1,2,4,24]. Изборът на подвижни фази е направен автоматично с помощта на програмата LSChrom, разработена в Катедрата по органична химия и фармакогнозия и основаваща се на общоприетата теория на Снайдер за течно-твърда хроматография с нормални фази на нейонни органични съединения. Проведените многобройни изследвания потвърждават, че теоретично предсказаните от софтуера LSChrom подвижни фази за тънкослойна хроматография на

използваните хетероциклени и  $\pi$ -диастереомерни съединения, осигуряват задържането им в благоприятния интервал между 0 и 1 ( $0.02 < R_F < 0.98$ ) и добро разделяне на диастереомерните двойки, само въз основа на данни за тяхната структура. Получените резултати са доказателство за добро съгласуване между теория и експеримент, което позволява програмата LSChrom да бъде прилагана за теоретично намиране на подвижни фази при анализа на сложни реакционни смеси, за разделянето, изолирането и пречистването на отделните им компоненти.

Възможностите на софтуера LSChrom се представят в рамките на лекционните курсове „Методи на органичния анализ“ за направление „Органична химия“, специалност „Химия“, бакалавърска степен на обучение и „Компютърни методи в химията“ – магистърска програма „Съвременни спектрални и хроматографски методи за анализ“.

## **II. Приноси в областта на органичния синтез на функционални багрила с потенциално приложение в оптоелектрониката и биомедицинския анализ.[15-23, 25]**

С цел приложение в съвременни системи за преобразуване на слънчева енергия или за нуждите на биоаналитичната химия, са синтезирани различно функционализирани багрила, съдържащи хетероциклени фрагменти в структурата си. Багрилните съединения са получени по ефективни процедури, изпълними и в по-големи работни скали и с тенденция за включването им в технологични процеси. Съвместно с колеги от Института по оптически материали и технологии „Акад. Йордан Малиновски“ към БАН е изследван потенциалът на част от багрилните молекули като компоненти във фотоволтаични устройства. В сътрудничество с учени от ИОХЦФ към БАН са проведени квантово-химични изследвания с цел изясняване и по-добро предвиждане на връзката молекулна структура-проявени/очаквани свойства.

II.1. В търсене на скуарилиеви багрила, с цел приложението им като електронодонорни компоненти в органични слънчеви клетки, по специално – Bulk-heterojunction solar cells (BHJ), по модифицирана тристадийна процедура, е синтезирано известно в литературата симетрично скуарилиево багрило, съдържащо дифенилхидразонометил-1*H*-пиролов фрагмент в структурата си [15]. Модификацията на метода се състои в използването на

обемистата база *N*-етилдиизопропиламин (DIPEA) вместо имидазол в стадия на формиране на хидразоновия прекурсор, довело до изолирането му в чист вид с почти количествен добив. Втората промяна в приложената синтетична процедура е включването на катализатор 4-диметиламинопиридин (4-DMAP) в последния стадий, в резултат на което реакционното време за получаване целевото багрило, докладвано в литературата, е намалено наполовина (от 4 на 2 часа) и добивът на таргетното съединение е повишен от 42 на 65%.

Електронодонорните свойства, с цел приложение на скуарилиево багрило във фотоволтаични устройства със смесени активни слоеве, са изследвани детайлно, при което нееднократно са доказани добрите му оптични свойства и потенциалът му за участие в системи за преобразуване на енергия, базирани на малки органични молекули [17-19].

II.2. Като следствие от добрите оптоелектронни свойства, демонстрирани от синтезираното скуарилиево багрило, за целите на квантово-химични изследвания, са предложени структури на моделни симетрично и несиметрично заместени скуарилиеви и крокониеви багрилни молекули [20]. Съединенията съдържат богати на електрони хетероциклени фрагменти в структурата си и са оценени теоретично като потенциални донори на електрони в органични фотоволтаични слънчеви клетки с акцепторен компонент [60]PCBM фулерен. Въз основа на оптимизираните молекулни геометрии, относителните позиции на орбиталите, абсорбционните максимуми и транспортните свойства на моделните съединения, е направено заключението, че някои от багрилата, са подходящи компоненти на фотоволтаици.

II.3. Синтезирано е ново симетрично крокониево багрило – резултат от кондензацията на подходящо алкилиран 2,5,6-триметилбензо[d]тиазол и кроконова киселина, като е приложена синтетична методика, описана в литературата при синтеза на аминоксуарилиеви багрила, базирани на индоленииеви соли, съдържащи активирана метилова група [16]. Процедурата е променена, като вместо базичен катализатор хиолин, е използвана обемистата основа –DIPEA. Замяната на хиолина е обусловена от възможността за протичане на странични реакции, а именно – негови автокондензационни процеси или Хофманово елиминирание в алкилираната бензотиазолова част на багрилото. Разработена е методика за пречистване на цвистерйонната багрилна молекула с помощта на колонна флаш-хроматография при използване на силно полярен елуент, което не изисква многократни

последователни прекристализации, обичайно прилагани за съединения от такъв тип и неминуемо водещи до намаляване на добивите на целевите продукти. Изследванията на оптоелектронните свойства на новосинтезираното крокониево багрило за потенциалното му приложение в клетки за преобразуване на слънчева енергия, работещи в разтвор, показват, че то притежава потенциал, сравним с този на доказано перспективни устройства.

II.4. Синтезирани са нови халогенсъдържащи асиметрични мономерни монометинови цианинови багрила – аналози на търговския флуоресцентен маркер на нуклеинови киселини Тиазол Оранжев (ТО) [21,25]. Синтезът на съединенията е постигнат с помощта на лесно изпълнима, ефективна и щадяща околната среда процедура. По този начин са избегнати недостатъците на обичайно прилагания метод на Брукер за получаване на цианинови багрила, а именно – възможност за протичане на нежелани странични реакции и отделяне в атмосферата на токсични съединения. Варирани са реакционните условия, при които се провежда последният стадий от методиката, като са намерени такива, при които е ограничено получаването на страничен, вероятно автокондензационен продукт, затрудняващ пречистването на реакционните смеси и понижаващ добива на целевите съединения.

Взаимодействието на новосинтезираните производни на ТО с двойноверижна ДНК (двДНК) са изследвани чрез абсорбционна и флуоресцентна спектроскопия. Установено е, че целевите съединения поглъщат в диапазона 509-519 nm и се характеризират с високи моларни абсорбируемости ( $63000-91480 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Всички изследвани багрила от серията в свободно състояние в ТЕ-буфер или не са флуоресцентни, или интензитетът им на флуоресценция е пренебрежимо нисък, но те стават силно флуоресцентни след свързването си с биообект – важна характеристика, обуславяща потенциала им за визуализация на биологични молекули. Сравнено с търговския маркер ТО, едно от новополучените съединения демонстрира по-голяма промяна във флуоресцентните си свойства след свързването си с двДНК. Изследвано е влиянието на заместителите, въведени в хромофорите, чрез комбинация от спектрални (UV-Vis и флуоресцентна спектроскопия) и теоретични (DFT и TDDFT изчисления) методи.

II.5. Синтезиран е нов мономерен трикатионен аналог на търговския маркер за нуклеинови киселини ТО от достъпни изходни съединения и по процедура, органичаваща



замърсяването на околната среда [23,25]. При изследване на фотофизичните характеристики на трикатионното багрило и сравнение с проявите от ТО, е установено, че новосинтезираното съединение има по-високи стойности на моларната абсорбируемост и демонстрира много по-голяма промяна във флуоресцентните си свойства, и то в по-ниски моларни концентрации, след свързване с биообект (над 2030 пъти увеличение на интензитета на флуоресценция при наличие на двДНК) [23]. Проявите от трикатионното багрило ценни фотофизични характеристики са отдадени на наличието на по-големия брой положителни центрове в молекулата.

II.6. За пръв път са синтезирани нови асиметрични монометинови цианинови багрила, съдържащи азахинолизиниев фрагмент, включен в структурата им в резултат от успешното хлориране на 4*H*-пиридо[1,2-*a*]пиримидин-4-он – съединение с доказано приложение в медицинската химия [22,25]. За получаване на азахинолизиниевите съединения са използвани изходни съединения, които не налагат приложението на метода на Брукер.

Фотофизичните характеристики на багрилата са изследвани детайлно и са сравнени [22,25] с тези на синтезирания от нас [23] мономерен трикатионен аналог на ТО. При изучаване на абсорбционните свойства на азахинолизиниевите съединения е установено, че те се характеризират с повече от един абсорбционен максимум – доказателство за склонността им към образуване на различни типове агрегати. И за двете изследвани съединения е характерно батохромно отместване на абсорбционните максимуми в ТЕ-буфер и наличие на двДНК – указание, че багрилата интеркалят в биомолекулата. И двете азахинолизиниеви производни се характеризират с много ниска собствена флуоресценция в ТЕ буфер в отсъствие на двДНК, но след свързването им с нуклеиновата киселина, се наблюдава значително увеличение на интензитета им на флуоресценция (до 1250 пъти в единия от изследваните случаи).

Данните от спектралните изследвания на новите азахинолизиниеви багрила и трикатионния аналог на ТО показват, че някои от новосинтезираните багрилни молекули притежават потенциал за приложение при визуализация на природни биополимери. Разработването на нови техни подходящо функционализирани аналози заслужава внимание и осмисля по-нататъшни изследвания в областта.

Подпис:  
/гл. ас. д-р М. Къндинска-Василева/