

**Авторска справка за приносяния характер на трудовете
на гл. ас. д-р Иван Владимиров Свиняров**

Катедра по органична химия и фармакогнозия, Факултет по химия и фармация, Софийски университет „Св. Климент Охридски“, представена за участие в конкурс за доцент по 7.3 Фармация (Фармакогнозия) обявен в ДВ, бр. 103 от 2016 г.

Справката е изготвена върху 21 научни труда^[1-21] (20 оригинални статии и 1 автореферат върху дисертация за придобиване на образователна и научна степен доктор, Приложение бб), като 16 от тях са публикувани в реферирани от ISI Web of Knowledge или SCOPUS научни издания, с общ *Impact Factor* 28.230. Към момента на подаване на документите са забелязани 108 цитата върху публикациите включени в справката, като 10 от тях са с *Response Factor* $\tau_1 \leq 1.5$ години. Част от резултатите са включени в 4 дисертации, 7 дипломни работи и са популяризирани сред научната общност общо с 35 доклада и 15 постерни презентации на международни и национални научни форуми^[K1-K50] (Приложение бв).

Справката очертава две основни научни направления:

- 1. Използване на йонни течности (ЙТ) в процеси на екстракция, разделяне и изолиране на природни продукти от естествените им източници.** Научните трудове включват изследвания върху твърдо-течни и течно-течни екстракции на природни продукти с ЙТ. Това е сравнително нова и актуална тематика, привлякла вниманието на световната научна общност и попадаща в полето на т. нар. зелена химия. Интересът е предизвикан от уникалните свойства, които притежават ЙТ, като ниско парно налягане, невъзпламенимост, висока термична и химична стабилност, съчетани с възможността да се манипулира техния вискозитет, полярност или смесваемост с други разтворители, определят йонните течности, като алтернатива на конвенционалните разтворители в различни процеси на екстракция и разделяне.
- 2. Синтез, структурното охарактеризиране и изследване на антиоксидантна, ензим инхибираща и антимикробна активности на серии от нови съединения.** Научните трудове включват разработване на синтези за получаване на хетероциклени природни аналози (кумарини, изокумарини, *транс*-канелени киселини, йонни течности), изследвания върху реакции на СН-киселини със съединения съдържащи полярни двойни връзки и следващи превръщания. Голяма част от изследванията са продължение на традиционни тематика за Групата по хетероциклена химия към Факултета по химия и фармация на СУ „Св. Кл. Охридски“.

Основните приноси от научната дейност са представени в резюме:

1. **Приноси в областта на йонните течности и използването им в процеси на екстракция и разделяне на природни продукти.** Чрез използването на водни разтвори на йонни течности като екстрагенти, са разработени алтернативни процедури за количествено определяне на биологично активни вещества в три растителни вещества, едното от които е включено в Европейската фармакопея, а другите две са суровина за добиване на биологично активни вещества във фармацевтичната индустрия. Проведени са задълбочени кинетични изследвания върху екстракционните процеси, предложени са различни екстракционни механизми в зависимост от структурата и свойствата на екстрагента и целевите съединения. Изследвани са различни подходи за тяхното изолиране и са предложени решения, ограничаващи използването на органични разтворители. Съвместно с колеги от Института по инженерна химия на БАН са проведени изследвания върху моделни системи за разпределението на различни класове съединения в двуфазни системи, формирани с вода/йонна течност.
 - 1.1. Разработени и валидирани са три нови аналитични процедури за количествено определяне на глауцин^[14,К1-К3,К17,К34,К35,К40-К43], галантамин^[2,К1-К3,К7-К9] и валеринови киселини^[1,К1-К3,К10,К11] съответно в *Glaucium flavum* Crantz (Papaveraceae), *Leucojum aestivum* L. (Amaryllidaceae) и *Valeriana officinalis* L. (Caprifoliaceae), включващи количествена екстракция в един цикъл с водни разтвори на йонни течности и следващ анализ с високоефективна течна хроматография (HPLC), без необходимост от допълнителни етапи на разделяне, пречистване и концентриране на пробите. Предложените методи са доказани като надеждни, значително по-лесни за изпълнение от наложените в практиката за количественото определяне на биологично активните компоненти, което дава основание за предпочетеното им използване.
 - 1.2. За първи път са проведени задълбочени кинетични изследвания върху процеса на екстракция от растително вещество с воден разтвор на йонна течност като екстрагент^[12,К17,К28,К29]. Измерена е кинетиката на извличане на S-(+)-глауцин от *G. flavum*, като са изчислени концентрацията на насищане, скоростната константа на

екстракция, началната скорост на екстракция и енергията на активиране на екстракцията. Получените резултати показват значително предимство на йонната течност пред метанола като екстрагент, дължащо се на по-бързото и количествено извличане на целевия алкалоид, независимо от температурата. Предложен е възможен механизъм на екстракцията, обясняващ наблюдаваните резултати и описващ взаимодействията вещество-разтворител, вещество-матрица и матрица-разтворител във всеки един етап от процеса.

- 1.3. Разработена е процедура за получаване на чист S-(+)-глауцин хидробромид (формата, под която се влага в различни антитусивни лекарствени продукти) от надземни части на *Glaucium flavum* Crantz (Papaveraceae), чрез екстракция с воден разтвор на йонна течност^[4,К4,К12,К13,К18,К19], като са използвани резултатите получени от кинетичните изследвания^[12,К17,К28,К29]. За първи път е показано, че може да бъде изолиран продукт от суров екстракт и вложената йонна течност да бъде количествено регенерирана и използвана отново в процеса на екстракция без промяна в екстракционната ѝ ефективност. В допълнение, с използването на космотропни соли е разработена подобрена екстракционна процедура, осигуряваща едновременно извличане на глауцина от суровия екстракт, получен с ЙТ, възстановяване на ЙТ и премахване на водата в една технологична стъпка^[5,К5].
- 1.4. Върху моделна система са установени оптимални условия, позволяващи контролирано разпределение на четири природни кумарина в двуфазна система, съставена от вода/хидрофилна йонна течност/космотропна сол^[6,К14]. Резултатите могат да бъдат прилагани при изолирането на природни съединения от сурови екстракти.
- 1.5. Показано е, че хидрофобните *N*-октил- и *N*-децилзаместени *N*-метилимидазолиевии захаринати могат да се използват за права и обратна екстракция на L-млечна киселина^[9,К15,К20,К30]. Изследванията са проведени върху моделни системи, като при оптималните намерени условия постигнатия екстракционен добив от обратната екстракция е най-високия описан до момента в литературата за система млечна киселина/йонна течност. Предложен е и възможен механизъм на екстракцията, основан на вторичната структура, която се реализира във водната фаза съдържаща йонната течност.

2. **Приноси в областта на синтеза, охарактеризирането и свойствата на органични съединения.** Разработени са две нови *one-pot* процедури за синтез на транс-ограничени 2-арилканелени киселини и 3-арилкумарини, като за последните е предложен и предполагаем механизъм въз основа на два изолирани интермедиата. Разработена е нова процедура, усъвършенствани и разширени са границите на приложимост на известни синтетични методи за получаване на кумарини, 3,4-дихидроизокумарини, гуанидиниеви и имидазолиеви йонни течности. Проведени са изследвания за изясняване на конфигурацията и конформацията в твърда фаза и разтвор на 3,4-дихидроизокумариновите системи. За избрани серии съединения са изследвани радикалоулавящи, антиоксидантни и тирозиназа инхибиращи свойства. Съвместно с колеги от Биологически факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“ са проведени изследвания за антимикробна активност срещу бактериални и гъбични щамове от различни таксономични групи.
- 2.1. Разширени са границите на приложимост на реакцията между хомофталови анхидриди и алдехиди, водеща до получаването на 3-заместени *цис-/транс*-3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксилни киселини, като е показана възможността 4-диметиламинопиридин да катализира ефективно и взаимодействие с алифатни алдехиди^[8,16,19,20,К36,К37,К45,К46]. Установени са зависимости между структурата, ефективния обем и електронните ефекти на заместителите в реагентите и диастереоселективността на реакцията, добива и структурата на крайните продукти. Диастереоселективността на реакцията е изследвана посредством ¹H ЯМР спектрални анализи и въз основа на намерените зависимости е предложен механизъм на взаимодействието между хомофталови анхидриди и алдехиди, който обяснява наблюдаваната диастереоселективност.
- 2.2. Синтезирана е серия 3-заместени *цис-/транс*-3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксамиди от съответните 4-карбоксилни киселини посредством киселиннохлоридния метод^[8,16,19,20,К36,К44]. Получените съединения са изследвани от колеги от Биологически факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“ за наличие на антимикробна активност, срещу бактериални и гъбични щамове от различни таксономични групи. От получените резултати е установено, че определящ фактор за

по-висока активност е наличието на дълга алифатна верига (C₈-C₁₀) в комбинация с групи, повишаващи хидрофилността на съединението.

- 2.3. Определена е относителната конфигурация на 3-заместени *цис-/транс*-3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксамиди и *цис-/транс*-3,4-дихидроизокумарин-4-карбоксамиди въз основа на стойностите на вициналните константи на спин-спиново взаимодействие и химичните отмествания на характеристични протони, а в пет от случаите и с помощта на рентгеноструктурен анализ^[8,20,К48]. Показано е, че мас-спектрометрията^[16] и линейно поляризирана ИЧ-спектроскопия^[19] също могат успешно да се използват за определяне относителната конфигурация на съединения от този тип. Установени са предпочетените конформации в разтвор при *цис*- и *транс*-изомерите посредством ¹H ЯМР^[8,К47].
- 2.4. Разработена е нова one-pot процедура за синтез на полихидроксизаместени 3-арилкумарини от хомофталови анхидриди и 2-метоксибензалдеhide^[10,К6,К22-К24,К31,К32]. Описаният метод е лесен за изпълнение и дава възможност целевите съединения да бъдат получени за кратко време с високи добиви и чистота. Въз основа на два изолирани интермедиата е предложен и реакционен механизъм. За синтезираните съединения е установена висока радикалоулавяща активност срещу 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил радикали (DPPH[•]), хидроксилни радикали (HO[•]) и супероксидни анион радикали (O₂^{-•})^[8,10,К21-К24]. Изведени са зависимости между наблюдаваната активност, броя и разположението на хидроксилните групи в кумариновия скелет, осигуряващ по-добра стабилизация на образуваните радикали и съответно повишава активността, сравнена с тази на използваните референти.
- 2.5. Разработена е нова процедура за синтеза на 3-(3,4-дихидроксифенил)-8-хидрокси-2*H*-хромен-2-он от диастереоизомерна смес *цис-/транс*-3-(2,3-диметоксифенил)-6,7-диметокси-1-оксоизохроман-4-карбоксилни киселини в кипяща смес HBr/AcOH посредством домино реакция, включваща последователни етапи на деметилиране/отваряне на лактонов пръстен/елиминиране/лактонизация/декарбоксилиране^[7]. Структурата на целевото съединение за пръв път е установена със спектрални методи, като ¹H, ¹³C, DEPT-135 ЯМР, ИЧ и HRMS.
- 2.6. Разработена е нова one-pot процедура за синтез на *цис*-ограничени стилбени от хомофталови анхидриди и ароматни алдеhide^[11,К6,К16,К25-К27,К33,К39]. Синтетичният

метод позволява комбинирането на два независимо действащи фармакофорни фрагмента в една ковалентно свързана молекула, като същевременно е лесно изпълним, протича с добри добиви и за кратки реакционни времена. Установено е, че вграждането на фрагмент от *транс*-канелена киселина в крайния продукт определя *цис*-конфигурация на стилбеновия скелет и не позволява следваща изомеризация на двойната връзка. Получените съединения са изследвани за антиоксидантни и радикалоулавящи свойства, ензим-инхибираща и антимикробна активност, съвместно с колеги от СУ „Св. Кл. Охридски“ и БАН^[3,11,K16,K25-K27,K33,K39]. Освен установената тройна биологична активност (радикалоулавяща, противогъбична и тирозиназа-инхибираща), за изследваните съединения бе наблюдаван и синергичен ефект, който бе отдаден на комбинирането на два независимо действащи фармакофорни фрагмента в една ковалентно свързана хибридна молекула.

- 2.7. Публикуван е обзор, разглеждащ реакцията между хомофталов анхидрид и имини^[16]. Предложена за първи път през 1977 година, днес тази реакция представлява утвърден метод за получаване на полизаместени хетероцикленни съединения, съдържащи изохинолинов фрагмент в структурата си. В работата е описан класическият, некатализиран вариант на реакцията, като последователно са разгледани реакционните условия и нейните ограничения. Разгледани са и различни модификации, като е акцентирано върху селективното получаване на стереоизомери с желана конфигурация. Представени са конкретни примери за следващи трансформации на получените изохинолини и употребата им като прекурсори в синтеза на природни продукти или съединения с потенциално приложение във фармацевтичната промишленост.
- 2.8. Публикуван е кратък обзор на методи за синтез на 3-алкил и 3-алкенилзаместени изокумарини и 3,4-дихидроизокумарини^[13]. Последователно са разгледани различни подходи за формиране на изокумариновата пръстенна система посредством метал катализирани реакции, *орто*-литиране, литиране в бензилово положение, кондензация между хомофталова киселина и хлориди, окисление на индан-1-они и др. Отделен акцент е поставен върху проявяваната от някои природни и синтетични представители биологична активност.

- 2.9. Подобрена е процедурата за получаване на *N*-алкилзаместени *N*-метилимидазолиеве йонни течности с хлориден, бромиден, ацесулфаматен и захаринатен аниони, като някои от тях са синтезирани за първи път^[14]. Халогенидите са получени чрез реакция на кватернизация между *N*-метилимидазол и съответните халогеноалкани в DMF, а ацесулфаматите и захаринатите чрез йоннообменна реакция от съответните имидазолиеве хлориди.
- 2.10. Синтезирана са серии *N''*-*n*-алкилзаместени *N,N*-диетил-*N',N'*-ди-*n*-пропил- *N''*-*n*-хексилгуанидиниеви йонни течности съдържащи съответно хлориден, тетрафлуороборатен, ацесулфаматен, захаринатен и тозилатен аниони^[18,К49]. Тетрафлуороборатните, ацесулфаматните и захаринатните йонни течности са получени чрез йоннообменна реакция от съответния хексазаместен гуанидиниев хлорид, синтезирани чрез реакция на кватернизация между пентаалкилзаместен гуанидин и съответния хлороалкан в DMF. Тозилатите са синтезирани чрез алкилиране на пентаалкилзаместения гуанидин със съответния алкилтозилат. За всички новосинтезирани гуанидиниеви йонни течности са определени разтворимост във вода и органични разтворители, рефрактивен индекс и плътност, като функция от дължината на алкиловия заместител и природата на аниона.
- 2.11. За първи път е изследвана систематично полярността на хомоложни серии хаксаалкилгуанидиниеви йонни течности, течни при стайна температура, като е използвано солватохромното бетаиново багрило на Райнхард^[17]. Охарактеризирани са неочаквани разтворител/разтворено вещество взаимодействия, чрез използване на положително солватохромно багрило.
- 2.12. Разширени са границите на приложение на софтуера LSChrom, създаден в групата по хетероциклена химия от проф. Мариана Паламарева, базиран на теорията на Снайдер^[21,К50]. Програмата е използвана за автоматичен избор на подвижна фаза за тънкослойнохроматографско разделяне на петнадесет съединения с четири кондензирани пръстена и два вариращи заместителя. Установено е, че задържането на всички съединения и разделянето на *цис*-/*транс*-изомерната двойка зависи от неподвижната фаза, ϵ и настройването на параметрите *m* и *P'* на подвижната фаза.

Изготвил:.....

д-р Иван Свиняров