

## СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Любомира Димитрова Йочева, СУ „Св. Климент Охридски“, Медицински факултет, Катедра „Биология, медицинска генетика и микробиология“, член на Научно жури, сформирано със заповед № I-116/04.08.2025 г. на Директора на Институт по микробиология „Стефан Ангелов“ при БАН

Относно дисертационен труд на тема: **„Изпитване потенциала на нови производни на етамбутол и изониазид с цел проучване на тяхната антитуберкуозна активност“**

за присъждане на образователната и научна степен “Доктор” в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологични науки, научна специалност: Микробиология - 01.06.12.

на докторанта: **Симеон Емилов Димитров**, ИМик - БАН, София, България

### Актуалност на темата и общи данни на дисертационния труд

Лечението на туберкулозата все още представлява сериозно предизвикателство пред медицината. Множество фактори влияят върху невъзможността за ерадикация на това инфекциозно заболяване в световен мащаб. Водещ фактор е нарастващото разпространение на резистентни щамове *Mycobacterium tuberculosis*: мултирезистентни (MDR-TB), екстензивно лекарствено резистентни (XDR-TB) и "напълно лекарствено резистентни" (TDR-TB). Те предизвикват нови форми на туберкулоза, които са трудно лечими или нелечими с прилаганите в медицинската практика препарати. Според данни на СЗО, България е една от 18-те страни с висока заболяемост от туберкулоза в Европа. В тази връзка е създадена Национална програма за превенция и контрол на туберкулоза в Република България 2021-2025. Безспорно, темата на дисертационния труд е изключително актуална и в съответствие с целите на Програмата, тъй като допринася за разработване на нови противотуберкулозни агенти – проучват се новосинтезирани производни на етамбутол и изониазид. Изискванията към новосинтезираните химични съединения са много: да имат висока антимикобактериална активност, ниска токсичност, добра ефективност и минимален риск от нежелани лекарствени реакции. Това налага провеждането на задълбочен биологичен и фармакологичен скрининг за подбор на вещества с антимикобактериален потенциал, което е съществен етап от проучванията за по-нататъшното им приложение в медицинската практика.

Дисертационният труд съдържа 151 страници (извън Заглавната страница и страницата с благодарностите) и включва необходимите раздели: Съдържание (3 стр.), Списък на използваните съкращения (2 стр.), Въведение (2 стр.), Литературен обзор (40 стр.), Цел и задачи (1 стр.), Материали и методи (13 стр.), Резултати и обсъждане (53 стр.), Изводи (2 стр.), Приноси (1 стр.), Използвана литература (30 стр.). Доказателственият материал е представен в 18 таблици и 39 цветни или черно-бели фигури с високо качество. В края на дисертацията са включени списъци на публикации, участия в научни форуми в областта на дисертационния труд и цитати (3 стр.).

Още във **Въведението** се разкрива необходимостта от разработването на представения дисертационен труд като етап от проучването на новосинтезирани производни на етамбутол и изониазид и установяване на тяхната ефикасност срещу различни щамове на *M. tuberculosis* и изясняване на механизмите на тяхното действие.

В **Литературния обзор** са представени актуални данни за разпространението на лекарствено-резистентната туберкулоза по света и в България. Разгледана е патогенезата на туберкулозната инфекция, както и ролята на оксидативния стрес за макроорганизма и микобактериите в развитието на заболяването и възможността да се използват терапевтични подходи, насочени към антиоксидантен баланс при туберкулоза. В обзора се съдържа описание

на клетъчната стена и факторите на патогенност и вирулентност при *M. tuberculosis*. Представени са механизмите за развитие на антибиотична резистентност. Описани са прилаганите в практиката противотуберкулозни лекарствени средства, техният механизъм на действие и възможни нежелани странични реакции към тях, както и нови вещества с антимикобактериален потенциал. Представени са някои модерни технологии за предклинично изпитване на лекарствени кандидати като молекулен докинг, транспортиране на молекули през клетъчна мембрана, пълно геномно секвениране. Литературният обзор е изключително информативен, написан е на издържан професионален език, но в същото време е разбираем и интересен. Той показва отличната осведоменост на докторанта по темата на дисертационния труд, способността му да анализира и обобщава.

**Целта** е формулирана ясно, от нея следват 6 задачи.

Използваните **материали и методи** са прецизно подбрани и подробно описани и може да са полезни на всеки, който планира да работи в тази област. Те напълно отговарят на поставените цел и задачи.

### **Резултати и научни приноси**

Проведен е скрининг на 15 новосинтезирани ароилхидразони (структурни аналози на изониазид) и на 6 нитрофуриламида (производни на етамбутол) и са подбрани два ароилхидразона (3a и 3d) и два нитрофуриламида (DO190 и DO209) с най-висока активност срещу *M. tuberculosis* H37Rv и *M. smegmatis*. Изследваните съединения демонстрират по-добра мембранна пропускливост и по-стабилно свързване с ензимите-мишени от изониазида, което ги прави обещаващи антимикобактериални кандидати. Същевременно, съединенията проявяват слаба цитотоксичност и минимални токсични ефекти при мишки, което предполага тяхната добра биосъвместимост и безопасност. Хистологичните изследвания при мишки, третирани с четирите съединения, показват слаби отклонения от нормалната структура на черния дроб, бъбреци и тънки черва и следователно минимален риск от медикаментозно увреждане. Проследяването на биохимичните маркери на оксидативния стрес в черен дроб показва, че ароилхидразоните 3a и 3d потискат липидната пероксидация, възстановяват съдържанието на глутатион, водят до компенсаторни промени в активностите на антиоксидантните ензими и проявяват по-добра антирадикалова активност в моделни химични системи, в сравнение с изониазида. Пълното геномно секвениране разкрива мутация в ген Rv3755c, водеща до засилен ефлукс на изследваните съединения и очертава необходимостта от бъдещи проучвания за изясняване на механизмите на лекарствената резистентност.

Извършена е огромна по обем експериментална работа, а получените резултати са убедителни и определено заслужават внимание. Разделът е онагледен с 30 отлично изработени фигури.

Формулирани са 10 извода, които напълно приемам, тъй като изразяват ясно постигнатите резултати. Съгласна съм и с обособените 4 приноса, които са с фундаментално значение.

**Списъкът на цитираната литература** обхваща 346 заглавия на латиница, 46% от които (161 броя) са публикувани от 2015 г. насам.

### **Публикации и участия в научни събития по темата на дисертационния труд**

С дисертацията са свързани 3 публикации и редица представяния на научни форуми. Статиите са публикувани в международни списания с импакт фактор: *Pharmaceutics* (IF: 5.500, Q1); *Biomolecules*, (IF: 6.525, Q1) и *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, ( IF: 0.9; Q3). В едната от тях Симеон Димитров е първи автор. Към момента на предаване на документите за защита на дисертационния труд публикацията в списание *Biomolecules* вече е събрала 5 цитата, което говори за отличния ѝ прием сред научната общност.

Получените нови знания и оригинални резултати са представени на 7 научни форума у нас и в чужбина (Сингапур, Индонезия, Италия, Франция, Испания).

### **Критични бележки и коментари, препоръки, въпроси към докторанта**

Към работата нямам забележки. Допуснати са дребни технически грешки (напр. погрешно написани или липсващи букви или предлози; повторения на изречения, объркване в номерацията на фигурите), които по никакъв начин не намаляват качествата на дисертационния труд.

### **Заклучение**

Представеният дисертационен труд е посветен на актуална и значима тема, предвидените в него цел и задачи са изцяло постигнати, при това на високо научно ниво, а получените оригинални резултати са безспорен принос в областта на микробиологията, фармакологията и експерименталната медицина.

В хода на подготовката, докторантът Симеон Димитров е разширил и надградил своята биомедицинска култура, усвоил е богат спектър от съвременни микробиологични, биохимични, хистологични и генетични методи и техники, израснал е като способен и перспективен учен. Активно се е включил в успешното изпълнение на два национални проекта към МОН и два международни научноизследователски проекта по Европейската програма за сътрудничество COST, които със своите иновативни идеи и професионално осъществяване не отстъпват на най-добрите световни примери.

Считам, че най-важният принос на този дисертационен труд е, че за първи път в България е проведен фармакологичен скрининг на селектирани производни на изониазид и етамбутол. За първи път е направен опит за създаване на алгоритъм за предклинични изпитания на съединения с антимикобактериален потенциал, в резултат на който тези новосинтезирани съединения могат недвусмислено да бъдат считани като перспективни лекарствени кандидати за лечение на туберкулоза, особено при пациенти с увредена чернодробна функция или при необходимост от прилагане на дългосрочна терапия. Поради това, положените от докторанта Симеон Димитров усилия при подготовката на дисертационния труд и полученият краен продукт заслужават висока оценка.

В заключение, докторантът изпълнява критериите за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ според Закона за развитие на академичния състав в Република България, както и на Правилника за неговото приложение в Института по микробиология „Стефан Ангелов“ – Българска академия на науките. Убедено давам своята **положителна оценка** и препоръчвам на членовете на Уважаемото Научно жури да присъдят на Симеон Емилов Димитров образователната и научна степен „Доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3 Биологически науки (Микробиология – 01.06.12.).

28.09. 2025 г.

Подпис: .....

/доц. д-р Любомира Йочева/