

РЕЦЕНЗИЯ

от

**доц. д-р Мая Маргаритова Захариева – Институт по микробиология „Стефан Ангелов“,
Българска академия на науките**

Относно: дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'
професионално направление 4.3. „Биологически науки“, научна специалност „Микробиология“

Автор: *Симеон Емилов Димитров*

Форма на докторантурата: редовна

Департамент: „Инфекциозна микробиология“ на Институт по микробиология „Стефан Ангелов“, Българска академия на науките

Тема: *“Изпитване потенциала на нови производни на етамбутол и изониазид с цел проучване на тяхната антитуберкулозна активност ”*

Научни ръководители: *Доц. д-р Виолета Вълчева Русева и Проф. д-р Милка Милчева Милева, Институт по микробиология „Стефан Ангелов“, Българска академия на науките*

Декларирам, че нямам конфликт на интереси по смисъла на чл. 4, ал. 5 от ЗРАСРБ. Нямам общи публикации по темата на дисертацията с д-р Симеон Димитров, магистър по ветеринарна медицина. Рецензията е направена в съответствие с изискванията на ЗРАСРБ и Правилник на Институт по микробиология „Стефан Ангелов“, Българска академия на науките за прилагане на закона за развитието на академичния състав в Република България. Не съм използвала софтуер за изкуствен интелект за изготвянето на рецензията на дисертационния труд.

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен/електронен носител е в съответствие със Закона за развитие на академичния състав в Р. България и на Правилника за развитие на академичния състав на Институт по микробиология „Стефан Ангелов“, Българска академия на науките и включва всички необходими документи. Документи са подредени нагледно, така, както са описани в заявлението на докторанта.

Докторантът е приложил **3 публикации** с SJR и/или фактор на значимост (ICI-IF), които са цитирани 5 пъти в научната литература.

Нямам забележки и коментари по документите.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Докторантът Симеон Емилов Димитров е роден на 07.03.1991 г. в гр. София. През 2016 г. той завършва висшето си образование във Факултет по ветеринарна медицина на Лесотехнически университет - София с много добър успех от държавните изпити. Зачислен е като редовен докторант към департамент по Инфекциозна микробиология на ИМикБ-БАН през 2022 г. По време на докторантурата завършва курсове по компютри и микробиомен анализ и биоинформатика. Събрал е кредит от общо 545 точки, което надвишава два пъти и половина изискуемия минимум.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Тематиката на дисертационния труд е особено актуална. Туберкулозата остава социално значим проблем с множество предизвикателства, особено поради нарастването на лекарствената резистентност и разпространение на мултирезистентни туберкулозни щамове. Пандемията КОВИД-19 още повече е усложнила ситуацията, тъй като според СЗО е довела до увеличаване на недиагностицираните и нелекувани случаи, които са основен източник на зараза и са с повишен риск от усложнения и смъртност. Разработването на нови лекарства е труден и дълъг процес, при който много от лекарствените кандидати отпадат поради висока токсичност, лоша бионаличност или други фармакологични проблеми. Поради това фармакологичният скрининг на новосинтезирани вещества с цел оценка на тяхната ефективност и механизми на действие срещу различни щамове на *Mycobacterium tuberculosis* е особено актуално и от съществено значение в борбата срещу туберкулозата.

4. Познаване на проблема

В литературния обзор на представения труд много подробно е разгледан проблемът туберкулозата наличието на лекарства, ваксини и превантивни мерки. Особено внимание е обърнато на развитието на мултилекарствената резистентност към двата най-ефективни анти-туберкулозни препарата рифампицин и изониазид и към няколко антибиотика, използвани в регионите Африка, Азия и някои източноевропейски страни. В библиографията са включени 346 литературни източника, което свидетелства за огромния труд, положен от докторанта при прегледа на наличната научна литература по въпроса. Докторантът е анализирал публикуваната информация и в обзора е направил критично обобщение на досегашните постижения в областта, описал е належащите проблеми и е обосновал научно целта на дисертационния труд. От написаното се вижда, че докторантът се е научил да борави с научна литература и на базата на обработената информация да поставя научни хипотези.

5. Методика на изследването

Дисертационният труд се отличава с богата методология от получаването и охарактеризирането на производните на EMB и INH до тестването на тяхната фармакологична активност. Прави добро впечатление последователната и добре аргументирана взаимозръзка между проведените химични и фармакологични тестове. Избраните методи са съвременни и логично намират своето място в последователната експериментална каскада на научната разработка, което способства за обосноваването на получените резултати и разкрива потенциала на съединенията за преминаване към следващи фармакологични нива на разработка.

Докторантът е извършил значителен обем експерименти за установяване на антитуберкулозната активност на изследваните съединения. Той е определил тяхната минимална инхибираща концентрация с REMA по стандартен протокол, описан в научната литература. Също така паралелно е извършен и молекулен докинг със софтуера Molecular Operating Environment (MOE, 2022). Изследвани бяха взаимодействията на съединенията с четири кристалографски структури на протеини от *Mycobacterium tuberculosis*: InhA с лиганди TCU (PDB: 2X22) и 641 (PDB: 4TZK), GlfT2 (PDB: 4FIY) и оксидоредуктаза (PDB: 4NXI).

Фармакологичните тестове включват още определяне на трансмембранен пермеабилитет със съвременен метод, оценка на ин витро цитотоксичността върху панел от нетуморогенни и туморогенни клетъчни линии. Оценена е била също така и ин vivo острата и подостратата токсичност съгласно насоките на OECD (2001) и стандартите ISO 10993-2/12. Патомор-

фологичната оценка на препарати от органите на опитните животни използвани в тези тестове дава доказателства за липсата на токсичност при селектираните съединения.

Докторантът е усвоил редица методи за определяне на антиоксидантна активност и редокс-модулиращ капацитет. Те включват определяне на общ белтък, тотален глутатион, активност на глутатион пероксидаза (GPx) и глутатион редуктаза (GRd), както и на малоналдеhid като маркер за липидна пероксидация. Проследена е била и активността на ензима супероксид дисмутаза. Антиоксидантният капацитет, изследва in vitro, включва DPPH тест и ABTS тест.

Интерес представлява проведеният in vitro анализ на мутагенезата при резистентните мутанти. Направено е пълно геномно секвениране след изолиране на ДНК от тях.

Статистическият анализ е извършен с няколко съвременни програми и показва, че докторантът е придобил задълбочени знания за изчислителните методи, прилагани при количествена оценка на фармакологични данни.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Представеният дисертационен труд е написан на висок научен стил върху 154 страници. Текстовете са богато и сполучливо онагледени с 40 фигури и 20 таблици. В библиографията са включени 346 литературни източника, повечето от които от последните 5 години. В труда е направен подробен анализ на научната литература по темата. Формулирани са шест задачи във връзка с изпълнението на поставената цел. Използваните материали и методи са описани с подробни протоколи. Резултатите и обсъждането им съставят основна част от труда. Резултатите са представени точно и пълно. Направени са десет извода. Изводите са логични и обхващат цялостното многообразие на получените експериментални данни. Посочени са 4 приноса.

Дисертацията на Симеон Димитров следва утвърдената в страната обща схема на структуриране, като е спазено съотношението между отделните части: Включени са всички основни раздели – увод, цел и задачи, материали, методи, резултати, обсъждане на резултатите, заключения и цитирана литература.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Приносите в дисертационния труд на Симеон Димитров са с научен характер. Те обобщават получените от докторанта оригинални експериментални данни относно актуален научен проблем – нови производни на етамбутол и изониазид с антитуберкулозна активност, които са потенциални лекарствени кандидати. Докторантът за първи път е изследвал антитуберкулозната активност на тези деривати и е доказал активността им срещу MDR-TB. За целта за първи път са получени мутантни клонове на на референтните щамове *M. smegmatis* и *M. tuberculosis H37Rv*, устойчиви на нарастващи концентрации над установената минимална инхибираща концентрация на избраното съединение. Двете най-активни съединения са охарактеризирани по отношение на 1) тяхната токсичност върху нетуморогенни клетъчни линии и 2) за остра и подостра токсичност върху опитни животни (плъхове). Установено е също така и взаимодействието на ароилхидразона 3d с NAD⁺ и Tgr158 и способността му да се свързва InhA, без предварително активиране от KatG, което го прави ефективен срещу MDR-TB.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Научните публикации, свързани с дисертационния труд са 3 броя. Изключително постижение представлява фактът, че публикациите са публикувани в престижни международни реферирани списания в списания с импакт ранг Q1 и Q2 и имат общ импакт фактор 23. Докторантът е първи автор на една от публикациите и съавтор в другите три. Публикациите включват съществена част от резултатите от дисертационния труд. Те са цитирани общо 5 пъти (без автоцитати) в реномирани международни списания, което е доказателство за тяхното високо качеството и тяхната актуалност. Докторантът е участвал в 6 научни форума, от които 2 международни, 1 с международно участие и 3 национални. Докторантът е водещ изследовател на един вътреуниверситетски проект към МУ-Пловдив на тема: „Биополимерни нано системи за насочена доставка на лекарства за противотуморна терапия“ и участва в още два – един национален, финансиран от Фонд „Научни изследвания“ и един международен по „Програма за стратегически изследвания и иновации за развитие на МУ-Пловдив (ПСНИИР-МУП)“.

9. Автореферат

Авторефератът напълно отговаря на изискванията на правилника на ИМикБ-БАН. В него са отразени кратко и ясно, без пропуски, постигнатите резултати. Написан е на 49 страници, като съдържа 30 фигури и 18 таблици. От направеното обобщение може да се придобие ясна представа за целите, задачите и изпълнението на дисертационния труд. Включени са обсъждането на резултатите, изводите и приносите, както и публикациите и участията в научни форуми, които са във връзка с дисертацията.

10. Критични забележки и препоръки

Нямам критични забележки и препоръки към проведеното изследване и приложения комплект материали. На места може да се подобри изказът и използваната терминология в текстовете, отнасящи се до фармакологичните проучвания върху цитотоксичността и острата и подостра ин виво токсичност.

11. Лични впечатления

Познавам докторанта Симеон Димитров от зачисляването му до днес. Присъствала съм на семинарите, на които той е представял научните си отчети, свързани с докторантурата. По време на презентацията му ми направиха добро впечатление начинът на представяне и обобщаване на получените резултати, както и многообразието на методите. Той представи получените резултати и тяхната значимост кратко, ясно и изчерпателно, в логична последователност. Докторантът показва ангажираност към проведеното изследване, отговори на зададените въпроси и остави приятно впечатление за мотивиран млад учен, готов да се посвети на науката.

12. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Повече от очевидно е, че получените резултати представляват солидна база за бъдещи изследвания на по-високо фармакологично ниво за получаване на фармацевтичен продукт с медицинско приложение. Най-важното обаче е, че те обогатяват съществено наличните данни в световната научна литература за активността на нови деривати на етамбутола и изониазида с по-висока антитуберкулозна активност и по-ниска токсичност. Получените резултати са много обнадеждаващи и перспективни за бъдещи изследвания в тази посока. Предвид ви-

сокото им качество, поръчвам продължаване на научните разработки с тестване и на други новосинтезирани съединения. Интересно би било и задълбочаване на фармакологичните тестове върху по-голям набор от ин витро клетъчни системи за оценка на ин витро цитотоксичност и ефекти върху клетъчния метаболизъм по отношение на ензимите CYP450. Това би помогнало да се премине към подходящи in vivo модели за изследване на фармакокинетичните особености. Бих се радвал, ако в бъдеще д-р Симеон Димитров продължи научната си кариера, тъй като според мен той вече е изграден млад учен с отлични способности и талант.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на асистент Симеон Димитров *съдържа редица научни резултати, които представляват оригинален принос в областта на антитуберкулозната активност*. Предоставеното научно изследване **покрива всички** изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ИМикБ-БАН за дисертационен труд. Считам, че дисертационният труд и наличието на три публикации в престижни международни научни списания с висок фактор на значимост и/или SJR, цитирани 14 пъти, покриват качествените и количествени критерии за придобиване на образователната и научна степен „доктор”.

Дисертационният труд показва, че докторантът Симеон Димитров **притежава** задълбочени теоретични знания и е придобил ценни професионални умения по научна специалност „Микробиология“ като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен ‘доктор’** на асистент Симеон Димитров по специалността „Микробиология“ в професионално направление 4.3 Биологически науки.

29.09.2025 г.

Рецензент:

(Доц. д-р Мая Захариева)