

СТАНОВИЩЕ

На дисертационния труд *„Изпитване потенциала на нови производни на етамбутол и изониазид с цел проучване на тяхната антитуберкулозна активност”* за придобиване на образователно-научната степен „Доктор“ област на висшето образование 4. „Природни науки, математика и информатика“, направление 4.3 „Биологически науки“, по научна специалност: Микробиология, шифър 01.06.12., на Симеон Емилов Димитров, редовен докторант

От доц. Деница Стефанова Стефанова, дф, Катедра по фармакология, фармакотерапия и токсикология, Фармацевтичен факултет при Медицински Университет-София

Избрана за член на научното жури в изпълнение на Заповед Заповед № 1-116/04.08.2025г. на Директора на Институт по Микробиология "Стефан Ангелов" – БАН

I. Актуалност и научна значимост на темата

Дисертационният труд на Симеон Емилов Димитров е посветен на проблематика с изключително висока актуалност и значим общественоздравен приоритет – разработването на нови терапевтични съединения за лечение на туберкулозата. Заболяването, причинено от *Mycobacterium tuberculosis*, остава едно от най-сериозните предизвикателства пред глобалното здравеопазване. Въпреки наличието на утвърдени лекарствени режими, туберкулозата продължава да бъде причина за значителна заболеваемост и смъртност. Честотата на мултирезистентните и екстензивно резистентните щамове поставя под въпрос ефективността на стандартните терапевтични подходи и налага спешно търсене на нови фармакологични решения.

Целенасоченото създаване на молекули с подобрена ефикасност, минимална токсичност и способност за преодоляване на лекарствената резистентност придобива особено значение за съвременната медицинска наука и клинична практика. В този контекст изследванията на Симеон Димитров се вписват в актуалните международни тенденции и притежават безспорна научна и социална стойност.

II. Цели и задачи на дисертационния труд

Основната цел на дисертационния труд е систематичен фармакологичен скрининг на предварително синтезирани химични съединения – производни на етамбутол и изониазид – с оглед комплексна оценка на тяхната антимикобактериална активност, токсикологичен профил, фармакокинетични характеристики и предполагаеми молекулярни механизми на действие.

Задачите на докторанта са многопластови и включват определяне на антимикобактериалната активност *in vitro* срещу референтни щамове *M. tuberculosis* H37Rv и *M. smegmatis* MC2155; анализ на взаимодействията на съединенията с ключови ензимни и структурни мишени чрез молекулярен докинг; оценка на трансмембранната пропускливост и вътреклетъчния транспорт; изследване на цитотоксичността *in vitro*; както и провеждане на тестове за остра и подостра токсичност *in vivo*, съпроводени с патоморфологичен анализ на черен дроб, бъбреци и тънки черва.

Допълнителни задачи включват оценка на антиоксидантната активност и редокс-модулиращия потенциал на избраните молекули чрез определяне на ключови биохимични параметри, индуцирана *in vitro* мутагенеза на устойчиви мутантни клонове и пълно геномно секвениране за изясняване на молекулярно-генетичните механизми на лекарствената резистентност. Всички тези направления изграждат комплексна и интегрирана характеристика на изпитваните съединения като потенциални терапевтични кандидати.

III. Структура, методология и научно ръководство

Дисертационният труд е изграден в строг академичен формат, включващ въведение, задълбочен литературен обзор, детайлно описание на материали и методи, експериментални резултати, аналитична дискусия и формулирани изводи. Трудът включва 40 фигури и 20 таблици, а библиографската справка е базирана на 346 литературни източника. Методологичната част впечатлява с изчерпателност и прецизност, осигуряващи надеждност и възпроизводимост на данните.

Дисертационният труд представлява задълбочено и интердисциплинарно изследване, посветено на комплексното фармакологично и микробиологично характеризирание на новосинтезирани ароилхидразони и нитрофураниламиди като

антимикобактериални средства. Изследването е разработено под ръководството на видни експерти в областта на микробиологията и фармакологията – доц. д-р Виолета Вълчева Русева и проф. д-р Милка Милчева Милева, които осигуряват постоянна научна подкрепа и експертен консултантски принос в интерпретацията на резултатите и избора на методологичния подход. Благодарение на техния професионализъм и методологическо ръководство докторантът успява да интегрира различни експериментални техники и да създаде логически и научно обоснован труд.

Приложеният мултидисциплинарен подход – съчетаващ микробиологични, фармакологични, биохимични и молекулярно-генетични техники – придава на труда солидна научна стойност и утвърждава неговата обоснованост и приложимост.

IV. Основни резултати и научни приноси

Сред най-значимите постижения на изследването се откроява идентифицирането на четири съединения с водещ антимикобактериален потенциал – две ароилхидразонове (3a и 3d) и две нитрофурилиамидни (DO190 и DO209). Тези структури се отличават с висока активност, благоприятен токсикологичен профил и оптимален вътреклетъчен транспорт, което ги определя като перспективни кандидати. Молекулярният докинг показва специфично свързване на ароилхидразона 3d с NAD⁺ и Tyr158, обясняващо неговата ефективност срещу мултирезистентни щамове на *M. tuberculosis*.

Оценката на безопасността е извършена чрез *in vivo* тестове за остра и подостра токсичност, както и патоморфологични анализи на черен дроб, бъбреци и тънки черва, при които не са установени значими патологични промени. Данните за антиоксидантен капацитет и редокс-модулиращи свойства на молекулите показват потенциален протективен ефект срещу оксидативен стрес – фактор с важно значение при хронични инфекции като туберкулозата.

Научната новост на труда се състои и в първото у нас приложение на индуцирана *in vitro* мутагенеза на референтни щамове, последвана от изолиране на хромозомна ДНК и пълногеномно секвениране. Този подход позволи идентифицирането на мутация в гена Rv3755c, асоциирана с лекарствена резистентност, разкривайки нови перспективи за разбирането на молекулярните механизми на адаптация на патогена и определяне на потенциални терапевтични мишени.

V. Литературен обзор и методологическа компетентност

Литературният обзор демонстрира систематичен и задълбочен подход, като обхваща глобалното и националното разпространение на резистентните форми на туберкулозата, механизми на лекарствена резистентност и съвременни направления в разработката на нови антимикобактериални молекули. Включени са и модерни предклинични технологии като молекулярен докинг, анализ на трансмембранната пропускливост и геномно секвениране, което подчертава научната компетентност на докторанта и съответствието на труда с международните стандарти.

Методичният раздел е разработен образцово, като протоколите са подробно описани и позволяват пълна възпроизводимост на експериментите. Това свидетелства за високото ниво на методологична зрялост и компетентност на дисертанта.

VI. Публикации и цитируемост

Научната продукция, произтичаща от дисертационния труд, е отразена в международни рецензирани списания, което подчертава високата научна стойност и оригиналност на проведените изследвания. Фактът, че тези публикации са цитирани от други изследователи, свидетелства за признанието и влиянието на резултатите в международната и националната научна общност, както и за тяхната приложна и концептуална значимост. Представянето на резултатите на редица научни форуми допълнително утвърждава тяхната научна релевантност и широкия интерес към тяхната интерпретация и последващи изследвания.

VII. Критични бележки към дисертационния труд

Бих си позволила да дам препоръка за подобряване на качеството на някои от представените фигури. В частност, фигурата, илюстрираща синтеза и химичната структура на серията нитрофураниламиди, както и фигурата, демонстрираща оценката на клетъчната жизнестойкост при третиране с нитрофураниламиди DO190 и DO209, биха могли да бъдат визуално прецизирани и допълнително детайлизирани, за да се подобри яснотата на представената информация и да се улесни възприемането на резултатите от читателя. Това ще допринесе за още по-високото качество и възпроизводимост на представените експериментални данни.

Интерес представлява изборът на туморни клетъчни линии за оценка на цитотоксичността на изследваните съединения. Бихте ли уточнили критериите, на базата на които са подбрани именно тези линии, както и логиката при определянето на концентрационния диапазон, използван при третиране с нитрофурилиамидите? Подобна информация би предоставила ценен контекст за интерпретацията на токсикологичния профил и потенциалната безопасност на новосинтезираните съединения.

Заклучение:

В цялост дисертационният труд представлява задълбочено, оригинално и методологично прецизно изследване, което допринася със значими нови знания в областта на антимикобактериалната фармакология и медицинската химия. Докторантът демонстрира висока научна зрялост, умения за планиране и изпълнение на комплексни експериментални проучвания и впечатляваща компетентност в интерпретацията на резултатите.

Научната продукция, отразена в дисертацията, и свързаните с нея наукометрични показатели отговарят на изискванията за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“. Особено впечатляващо е, че публикуваните статии вече са цитирани и че резултатите са представени на престижни международни и национални научни форуми, което свидетелства за висока научна стойност и значимост на проведените изследвания.

Въз основа на изложеното изразявам убеденото си положително становище и препоръчвам на уважаемото научно жури да присъди на Симеон Емилов Димитров образователната и научна степен „Доктор“.

29.09.2025 г.

Член на научното жури:

(доц. Деница Стефанова, дф)