

СТ А Н О В И Щ Е

От проф. Магдалена Спасова Кондева-Бурдина, дф, ERT

Катедра “Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”,

Фармацевтичен факултет при МУ-София

ОТНОСНО: дисертационен труд на тема: *„Неврофармакологични проучвания на новосинтезирани сулфанил хидразони и мелатонинови производни с холинестеразна инхибиторна активност при модели на болест на Алцхаймер и мелатонинов дефицит”*, представен за защита за присъждане на образователна и научна „Доктор” по направление 7.1. Медицина, научна специалност „Фармакология“ на Петя Петкова Иванова, с научни ръководители: проф. Яна Чекаларова и проф. Виолина Стоянова.

На основание Заповеди № 50/26.09.2025 г. и № 54/02.10.2025 г., съм определена да изготвя становище според изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в БАН.

Кратки биографични данни

Образование

Петя Иванова завършва през 2019 г. степен “Бакалавър по Биотехнологии”, а през 2021 г. завършва степен „Магистър по Биомедицинско инженерство“ в Химикотехнологичен и металургичен университет-София.

Трудов стаж

От септември 2020 г. – досега – Институт по невробиология;

От юни до септември 2020 г. – Институт по биофизика и биомедицинско инженерство;

От март 2019 до юни 2020 г. – клинични проучвания;

От февруари 2013 г. до май 2020 г. – Фирма „Електросфера“ ЕООД;

От февруари 2012 г. до юни 2012 г. – Фирма „Райхле енд Де-Масари прадъкшън“ ЕООД;

От септември 2010 г. до януари 2012 г. – Фирма „ЕПИК Електроник“ ЕАД (IMI).

Актуалност на темата

Болестта на Алцхаймер (БА) представлява прогресивно невродегенеративно заболяване, което засяга предимно населението над 65 годишна възраст. Характеризира се с постепенно влошаване на паметовите функции и нарушения в когнитивните процеси. На фона на глобалното застаряване, това заболяване се превръща в значимо медицинско и социално предизвикателство, което е отговорно за повечето случаи на деменция. Епидемиологичните данни предвиждат трайна тенденция към увеличаване броя на болелите, което налага търсене на нови подходи способни не само да облекчат симптомите, но и да забавят патофизиологичните механизми на заболяването. Съвременните терапии осигуряват частично подобрене и временно стабилизиране на когнитивните функции, но ефективността им е ограничена и не води до забавяне прогресията на заболяването. Затова се налага необходимост от разработване на различни подходи, които таргетират няколко патологични механизма като комбинират облекчаване на острата симптоматика с невропротективен ефект.

Структура на дисертационния труд

Представеният ми за становище дисертационен труд е структуриран съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав и има всички качества на завършен научен продукт.

В **литературния обзор** се разглежда в детайли проблематиката, свързана с ключовата роля и модулирането на основни сигнални пътища, свързани с развитието на болестта на Алцхаймер, както и ролята на оксидативния стрес и нарушенията в редокс-хомеостазата в патологията на това заболяване.

Целта на работата е ясно и конкретно формулирана и произтича от заключенията на литературния обзор. За постигането на целта са формулирани **6** конкретни задачи.

Методичният набор включва голямо разнообразие от съвременни методи, което дава възможност за висока надеждност на получените резултати.

Резултатите са с оригинален характер, надлежно, коректно и изчерпателно онагледени. Целта е изпълнена успешно и на изключително високо научно ниво.

Патологичният модел, комбиниращ мелатонинов дефицит чрез пинеалектомия с последваща след седмица инфузия на $A\beta_{1-42}$, е надежден и високовалиден експериментален модел на спорадична форма на БА. Той възпроизвежда ключови патогенетични механизми на заболяването – амилоидогенеза, Тау-патология, когнитивни дефицити и дисрегулация на мелатониновата сигнализация, което го прави

подходящ инструмент за изследване на нови терапевтични стратегии и валидиране на хибридни молекули с потенциални невропротективни ефекти.

Мелатонинът се утвърждава като подходящо и обосновано референтно вещество при предклинични изследвания върху модели на спорадична форма на БА. Той демонстрира комбинирани антиоксидантни, рецепторно- и вътреклетъчно-медиирани антиамилоидни ефекти, които го правят подходяща позитивна контрола при оценка на потенциални невропротективни средства. В рамките на използвания комбиниран модел на пинеалектомия и инфузия на $A\beta_{1-42}$, мелатонинът демонстрира защитни ефекти върху когнитивните функции чрез стимулиране на не-амилоидогенния сигнален път опосредстван от MT1 рецепторите и вътреклетъчната сигнализация чрез SIRT1.

Съединението **3c** показва способност да възстановява не-амилоидогенния мелатонинов сигнален път чрез нормализация експресията на двата мелатонинови рецептора, MT1 и MT2 в хипокампа и активация на низходящата ERK1/2–CREB сигнална каскада, което подпомага когнитивното възстановяване в условия на $A\beta$ -индуцирана патология и мелатонинов дефицит.

Съединението **3a** демонстрира силно въздействие върху оксидативния статус, като нормализира нивата на антиоксидантни ензими и редуцира липидната пероксидация, което допринася за неговия невропротективен потенциал.

Синтезът на хидразид-хидразоновите производни се откроява като перспективен метод за реализиране на нови фармакофорни кандидати с мултитаргетно действие. Техният профил предлага реална възможност за разработване на нови терапевтични стратегии при БА и други невродегенеративни патологии.

В **обсъждането** на получените резултати, дисертантката е успяла да обобщи получените данни и да ги сравни с наличните в литературата.

Изводите са изложени стегнато и съответстват на поставените цел и задачи. Те отразяват напълно резултатите от проучванията.

Съгласна съм с направените **приноси**, а именно:

Научно-теоретични приноси с оригинален характер

- Първо експериментално изследване с фокус върху неамилоидогенния мелатонинов сигнален път. За първи път е акцентирано върху активацията на неамилоидогенната мелатонинова сигнализация, вътреклетъчната, асоциирана със SIRT1 и рецепторната, която активира верига от ензимни реакции.

- *In vivo* анализ на хидразид-хидразонов хибриди при плъхове. За първи път в България бяха проведени *in vivo* тестове върху плъши модел на новосинтезирани хидразид-хидразони с мултифакторно действие. Чрез прилагането на стандартни и утвърдени поведенчески методики се установи техният потенциал да коригират ключови когнитивни и молекулярни нарушения, което доказва приложимостта им като надеждни фармакологични препарати за бъдещо терапевтично развитие.

Приноси с научно-приложен характер

- Иновативен хибриден модел на БА при плъхове. Използваният модел, който комбинира пинеалектомия и интрацеребровентрикуларна инфузия на $A\beta_{1-42}$, представлява оригинален хибриден подход. Той ефективно възпроизвежда ключови патогенетични аспекти на БА: амилоидна и Тау-патология, мелатонинов дефицит и когнитивни нарушения, осигурявайки висока валидност и надеждност за изследване на терапевтични стратегии.
- Ролята на мелатонина като протективен агент при БА. Резултатите подкрепят вече известните данни, че мелатонинът упражнява невропротективни ефекти чрез рецепторно-медиирани и антиоксидантни механизми, коригирайки когнитивни дефицити и стабилизирайки сигнални каскади, свързани с паметта.
- Връзката между мелатонинов дефицит и ускорена невродегенерация. Данните от моделната група (пинеалектомия + $A\beta_{1-42}$) показват изразени когнитивни нарушения и молекулярни промени, което потвърждава съществуващите хипотези, че намалените нива на мелатонин при стареене допринасят за патогенезата на БА.
- Приложимост на валидирани поведенчески тестове, отговорни за краткосрочна памет и хипокамп-асоциирани дисфункции. Използваните протоколи (Y-maze, ORT, OLT) показват чувствителност към индуцираните дефицити и ефектите на терапевтични интервенции, потвърждавайки тяхната надеждност за оценка на паметови функции при гризачи.

Бих искала да изразя отличното си впечатление от детайлния дизайн на проучването и от цялостния прочит на разработката, което потвърждава личния принос на дисертантката към настоящият труд. Дисертационният труд представлява логично планирано и компетентно осъществено научно изследване.

Дисертантката е приложила 3 научни публикации с импакт фактор, свързани с дисертационния труд, които имат 8 цитирания. Участва като изследовател в 5 национални и международни проекта. Има 3 изнесени доклада в научни конференции и конгреси.

Това надвишава количествените критерии за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработката на Петя Петкова Иванова е завършен дисертационен научен труд, отговарящ на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България. Разработеният проблем е много актуален, научно-обоснован и дисертабилен. Оформените резултати и изводи от изследванията са със значим научен принос.

Въз основа на гореизложеното давам отлична оценка на разработката и гласувам **ПОЛОЖИТЕЛНО** за присъждането на образователната и научна степен „ДОКТОР“ по направление 7.1. Медицина, на Петя Петкова Иванова.

17.10.2025 г.

Гр. София

Подготвил становището:

/проф. Магдалена Спасова Кондева-Бурдина, дф, ERT/

OPINION

from prof. Magdalena Spasova Kondeva-Burdina, PhD, ERT

Department "Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology",

Faculty of Pharmacy. Medical University-Sofia

Regarding: PhD thesis, which is entitle: „*Neuropharmacological investigations of newly synthesized sulanyl hydrazones and melatonin derivatives with cholinesterase inhibitory activity in models of Alzheimer's disease and melatonin deficiency*”, submitted for defense for the award of an educational and scientific "Doctor" degree in field 7.1. Medicine, scientific specialty "Pharmacology" by Petya Petkova Ivanova, with scientific supervisors: Prof. Yana Chekalarova and Prof. Violina Stoyanova.

Based on Orders No. 50/26.09.2025 and No. 54/02.10.2025, I am appointed to prepare an opinion according to the requirements of the Academic Staff Development Act in the Republic of Bulgaria and the Regulations on the Conditions and Procedure for Acquisition of Scientific Degrees and for Occupation of Academic Positions at Bulgarian Academic of Science.

Brief biographical information

Education

Petya Ivanova graduated in 2019 with a Bachelor's degree in Biotechnology and in 2021 with a Master's degree in Biomedical Engineering from the University of Chemical Technology and Metallurgy in Sofia.

Work experience

September 2020 – present – Institute of Neurobiology;

June to September 2020 – Institute of Biophysics and Biomedical Engineering;

March 2019 to June 2020 – Clinical studies;

February 2013 to May 2020 – Electrosfera EOOD;

February 2012 to June 2012 – Reichle & De-Massari Production Ltd.;

From September 2010 to January 2012 – EPIC Electronics Ltd. (IMI).

Relevance of the topic

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder that mainly affects people over the age of 65. It is characterized by a gradual deterioration of memory functions and cognitive impairment. Against the backdrop of global aging, this disease is becoming a significant medical and social challenge, responsible for most cases of dementia. Epidemiological data predict a sustained upward trend in the number of cases, necessitating the search for new approaches capable not only of alleviating symptoms but also of slowing down the pathophysiological mechanisms of the disease. Current therapies provide partial improvement and temporary stabilization of cognitive functions, but their effectiveness is limited and does not slow the progression of the disease. Therefore, there is a need to develop different approaches that target several pathological mechanisms by combining relief of acute symptoms with a neuroprotective effect.

Structure of the dissertation

The dissertation submitted to me for review is structured in accordance with the requirements of the Academic Staff Development Act and has all the qualities of a complete scientific product.

The literature review examines in detail the issues related to the key role and modulation of major signaling pathways associated with the development of Alzheimer's disease, as well as the role of oxidative stress and redox homeostasis disorders in the pathology of this disease.

The aim of the work is clearly and specifically formulated and stems from the conclusions of the literature review. Six specific tasks have been formulated to achieve the aim.

The methodological set includes a wide variety of modern methods, which ensures high reliability of the results obtained.

The results are original, duly, correctly, and comprehensively illustrated. The objective has been successfully achieved at an exceptionally high scientific level.

The pathological model, combining melatonin deficiency through pinealectomy with subsequent infusion of A β 42 one week later, is a reliable and highly valid experimental model of sporadic AD. It reproduces key pathogenetic mechanisms of the disease – amyloidogenesis, Tau pathology, cognitive deficits, and melatonin signaling dysregulation, making it a suitable tool for investigating new therapeutic strategies and validating hybrid molecules with potential neuroprotective effects.

Melatonin has been established as a suitable and justified reference substance in preclinical studies on models of sporadic AD. It demonstrates combined antioxidant, receptor- and intracellular-mediated anti-amyloid effects, which make it a suitable positive control in the evaluation of potential neuroprotective agents. Within the combined model of pinealectomy and A β 42 infusion, melatonin demonstrates protective effects on cognitive function by stimulating the non-amyloidogenic signaling pathway mediated by MT1 receptors and intracellular signaling via SIRT1.

Compound **3c** shows the ability to restore the non-amyloidogenic melatonin signaling pathway by normalizing the expression of the two melatonin receptors, MT1 and MT2 in the hippocampus and activation of the downstream ERK1/2–CREB signaling cascade, which aids cognitive recovery in conditions of A β -induced pathology and melatonin deficiency.

Compound **3a** demonstrates a strong effect on oxidative status by normalizing antioxidant enzyme levels and reducing lipid peroxidation, contributing to its neuroprotective potential.

The synthesis of hydrazide-hydrazone derivatives stands out as a promising method for the realization of new pharmacophore candidates with multitarget action. Their profile offers a real opportunity for the development of new therapeutic strategies for AD and other neurodegenerative pathologies.

In **discussing** the results obtained, the author has managed to summarize the data and compare it with that available in the literature.

The **conclusions** are concise and correspond to the objectives and tasks set. They fully reflect the results of the studies.

I agree with the contributions made, namely:

Scientific and theoretical contributions of an original nature

- First experimental study focusing on the non-amyloidogenic melatonin signaling pathway. For the first time, emphasis is placed on the activation of non-amyloidogenic melatonin signaling, intracellular, associated with SIRT1 and receptor, which activates a chain of enzymatic reactions.
- *In vivo* analysis of hydrazide-hydrazone hybrids in rats. For the first time in Bulgaria, *in vivo* tests were conducted on a rat model of newly synthesized hydrazide-hydrazones with multifactorial action. Through the application of standard and established behavioral methods, their potential to correct key cognitive and molecular disorders was

established, proving their applicability as reliable pharmacological preparations for future therapeutic development.

Contributions of a scientific and applied nature

- Innovative hybrid model of AD in rats. The model used, which combines pinealectomy and intracerebroventricular infusion of $A\beta_{1-42}$, represents an original hybrid approach. It effectively reproduces key pathogenetic aspects of AD: amyloid and Tau pathology, melatonin deficiency, and cognitive impairment, ensuring high validity and reliability for the study of therapeutic strategies.
- The role of melatonin as a protective agent in AD. The results support the already known data that melatonin exerts neuroprotective effects through receptor-mediated and antioxidant mechanisms, correcting cognitive deficits and stabilizing memory-related signaling cascades.
- The link between melatonin deficiency and accelerated neurodegeneration. Data from the model group (pinealectomy + $A\beta_{1-42}$) show pronounced cognitive impairments and molecular changes, confirming existing hypotheses that reduced melatonin levels during aging contribute to the pathogenesis of AD.
- Applicability of validated behavioral tests responsible for short-term memory and hippocampus-associated dysfunctions. The protocols used (Y-maze, ORT, OLT) show sensitivity to induced deficits and the effects of therapeutic interventions, confirming their reliability for assessing memory functions in rodents.

I would like to express my excellent impression of the detailed design of the study and the overall reading of the work, which confirms the personal contribution of the doctoral student to the present work. The dissertation represents a logically planned and competently executed scientific study.

The doctoral candidate has applied 3 scientific publications with impact factor related to the dissertation, which have 8 citations. She participates as a researcher in 5 national and international projects. She has presented three papers at scientific conferences and congresses. This exceeds the quantitative criteria for obtaining the educational and scientific degree of "DOCTOR."

CONCLUSION

Petya Petkova Ivanova's work is a completed dissertation that respond the requirements of the Law on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria. The problem addressed is very topical, scientifically sound, and worthy of a dissertation. The results and conclusions of the research are of significant scientific contribution.

Based on the above, I give an excellent assessment of the work and vote POSITIVELY for the award of the educational and scientific degree "DOCTOR" in the field of 7.1. Medicine to Petya Petkova Ivanova.

17.10.2025

Sofia

Prepared the opinion:

/prof. Magdalena Spasova Kondeva-Burdina, PhD, ERT/