

Резюмета на основните резултати и научните приноси на доц. д-р инж. Петър Тодоров Тодоров

Обобщена справка на научните трудове:

Общ брой научни трудове представени за участие в конкурса	26
Общ импакт фактор	52,879
Индивидуален импакт фактор	10,668
1. Публикации в реферирани списания в базите данни <i>Scopus</i> и <i>Web of Science</i> с импакт фактор или импакт ранг	
А. с импакт фактор	20
Б. с импакт ранг	6
2. Участия в други научни форуми (доклади/постери)	41
3. Общ брой забелязани цитати	>240
4. Участия в научни проекти за периода 2013-2021г., финансирани от:	
А. Фонд Научни Изследвания (ФНИ)	4
Б. НИС-ХТМУ	8
В. Други	7

Представените за участие в конкурса научни работи, са в областта на Органичната химия, в частност дизайна, синтеза и охарактеризирането на биологично активни вещества, както и извеждането на зависимости относно структура-активност на биологично активни молекули, и по-специално на ендогенни пептиди и хидантоинови производни.

Основните научни и приложни приноси на представените трудове са главно в следните две направления:

I. Синтез, спектрално охарактеризиране и изследване на биологичните свойства на нови ендогенни пептиди.

II. Синтез и охарактеризиране на нови хидантоинови производни.

I. Синтез, спектрално охарактеризиране и изследване на биологичните свойства на нови ендогенни пептиди.

I.1. Синтез, охарактеризиране и изследване на биологичната активност на нови хеморфинови аналози.

Биологично активните пептиди се явяват важни изходни структури при търсенето и разработването на нови потенциални антиконвулсанти и антиноцицептивни агенти. Те се свързват с различни рецептори (опиоидни, неопиоидни или и двете) и се включват в контрола на разнообразни физиологични процеси. Синтезът и изследването на подобен тип съединения е актуална научна тематика, пряко свързана с проучване и бъдещо разработване на нови терапии, прилагани в медицината. Създаването на лекарствени

средства с ниска токсичност и отсъствие на странични ефекти е основен проблем, чието разрешаване е предизвикателство пред учените от цял свят.

Ендогенните опиоидни пептиди функционират едновременно като хормони и невромодулатори. Те представляват пептидни молекули, които се произвеждат в централната нервна система, както и в различни жлези на тялото. Хеморфините, или още наречени хемоглобин-активни пептиди, са естествени пептиди с афинитет към опиоидните рецептори (μ -, δ - и k -) и морфиномиметични свойства. Идентифицирани са 10 хеморфина, получени от един участък на β -глобиновата верига на хемоглобина. Те са открити в различни тъкани и телесни течности, като мозък, плазма, гръбначномозъчна течност, гръбначен мозък, еритроцити и други. При нормални условия хеморфините се намират в тъканите като семейства на структурно свързани пептиди, различаващи се по тяхното N- и C- крайно разграждане. Някои хеморфини имат установен механизъм на действие, свързан с потискане на ензима аминопептидаза-N и са функционални антагонисти на биологично-активния ангиотензинов пептид ангиотензин IV. Ето защо, синтезирането на нови N- и C- модифицирани аналози на пептиди от кръвни протеини, като хеморфините, съдържащи непротеиногенни и/или природни аминокиселини, аминокиселинонов остатък и др. с невробиологична активност представлява интерес както за химиците-синтетици, така и за фармаколозите. Голяма част от изследванията ни са в областта на целенасочения синтез и дизайн на нови пептидни аналози на биоактивните хеморфини, тяхното охарактеризиране и определянето на биологичната им активност, и са представени в публикации № *A11*, *A12*, *A13*, *A14*, *A15*, *A16*, *A19*, *A20*, *A22*, *A23* и *A26*. Потенциалът на тази група съединения като биологично активни вещества и перспективността на работата по създаването на нови производни на хеморфините с неврофармакологична активност, бяха основен мотив в нашите научни разработки. Работите, отпечатани през последните 2-3 години, свързани със синтеза и охарактеризирането на новите хеморфинови аналози са цитирани неколккратно в Световната научна литература. Това показва значимостта на проведените изследвания.

Основавайки се на богатия опит, който имаме както в твърдофазния пептиден синтез, така и в получаването на α -аминофосфонови киселини, синтезирахме новите хеморфинови аналози, използвайки твърдофазния пептиден синтез (Fmoc-стратегия (синтеза на Шепард)) и Rink-Amide-MBHA смола като твърдофазен носител. Съгласно условията на метода, изграждането на пептидната верига се осъществява върху твърд носител – специално обработена поливинилна неразтворима смола, която при определени условия се свързва с C-края на първата аминокиселина и също при определени условия, готовата пептидна верига се отцепва от смолата в края на синтеза.

Основните приноси, отнасящи се до новите хеморфинови аналози са:

- В научен труд № *A11* са представени синтезът и антиноцицептивната активност на нови аналози на VV-хеморфин-5, модифицирани в позиция 1 и 7 с непротеиногенни и/или природни аминокиселини следвайки структурата: Xxx-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-NH₂ и Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Yyy-NH₂, където Xxx е Ile или Aib и Yyy е Lys / Orn / Dap / Dab. Всички тествани пептиди показаха краткотраен първоначален антиноцицептивен ефект, с изключение на пептид H2, съдържащ 2,3-диаминопропанова киселина (Dap) в позиция 7 и характеризиращ се с продължителен и силен антиноцицептивен

ефект, докато останалите пептидни аналози показаха по-променливи ефекти върху висцералната ноцицепция в зависимост от дозата и времето след инжектиране.

- В научен труд № **A12** са представени синтезът, охарактеризирането и изследването на биологичните свойства на нов пептиден аналог на VV-хеморфин-5, съдържащ азобензенев остатък по отношение на неговите E→Z фотофизични свойства. Съединението бе синтезирано чрез модифициран твърдофазен пептиден синтез по Fmoc-димеризационна стратегия. За изследване на ефекта на синтезирания азопептид върху електричните свойства на клетъчните мембрани, бе измерен специфичният капацитет на липидните слоеве. Резултатите показаха понижаване на мембранный капацитет в присъствието на азопептида, както и доказателства за възможни изменения в диелектричната пропускливост на двуслойния липиден слой. Пептидът (Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln)₂Azo бе изследван и *in vivo* за предварителна антиконвулсивна активност чрез 6-Hz тест и интравенозен пентилентетразолов гърчов тест (PTZ) при мишки. Установено бе, че Z-изомерът намалява възможността за поява на гърчове, индуцирани от PTZ и пептидът заслужава допълнителна оценка в други скринингови тестове за антиконвулсивна активност. В статия № **A2** е извършен хроматографски анализ на двукомпонентни заредени липидни бислоеве във водни разтвори с контролирана йонна сила при различно pH на средата. Наблюденията чрез фазово-контрастна и флуоресцентна микроскопия, показват съвместно съществуване на две структурни фази в мембраните от стеароил олеоил фосфатидилхолин (SOPC), съдържащи повече от 10 mol% от заредения липиден диолеоил фосфатидилсерин.
- VV-Хеморфин-5, известен още като Валорфин, представлява ендегенен опиоиден пептид от семейството на хеморфините с афинитет към опиоидните рецептори. Получените чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc-стратегия пептидни молекули са C-крайни амиди. Следвайки структурният модел на VV-хеморфин-5, са направени модификации в позиции 1 и 7 с неприродни и протеиногенни аминокиселини (Aaa-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-NH₂ и Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Aaa-NH₂). На пептидните аналози беше направен скрининг за наличие на антиконвулсивна активност спрямо три теста за остър припадък при експериментални модели ICR мишки, максимален електрошоков гърчов (MES) тест, 6-Hz тест за психомоторен припадък и инфузионен интравенозен пентилентетразолов гърчов тест (ivPTZ). От всички тествани пептиди, най-голяма антиконвулсивна активност и в трите гърчови теста показва съединение V4, която е сравнима с VV-хеморфин-5 (V1), използван като положителна контрола. Докато пептидните производни V5, V6 и V7 проявяват антиконвулсантна активност, при MES и 6 Hz теста, те са неактивни (V7) или показват проконвулсивен ефект (V5 и V6) при ivPTZ теста. Двигателната координация не се повлиява от новосинтезираните аналози. Резултатите от докинг проучването предполагат, че свързването с капа-опиоидния рецептор е най-вероятният механизъм на действие на

пептидните производни с антиконвулсивна активност. Резултатите показаха, че включването на неприродни и протеиногенни аминокиселини в позиция 1 и 7 в пептидната верига на VV-хеморфин-5 заслужават допълнителна оценка в различни модели на епилепсия (научен труд № **A14** и **A15**).

- За първи път е въведен аминокиселинов остатък в пептиди от този тип (научен труд № **A16** и **A23**). Нова серия от *N*-модифицирани аналози на VV-хеморфин-5 съдържащи аминокиселинов остатък са синтезирани, охарактеризирани и изследвани за антиконвулсивна активност. Новите пептидни молекули бяха синтезирани чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc-стратегия. Биологичната активност на съединенията бе оценена чрез провеждането на интравенозен пентилентетразолов гърчов тест (ivPTZ) и 6-Hz психомоторен тест при експериментални модели у мишки. От всички тествани пептидни аналози, V3p е най-активен спрямо ivPTZ теста с ефект, сравним с този на VV-хеморфин-5 (V1), използван като положителна контрола. Пептидни аналози V2p-V5p показаха зависимости от дозата психомоторни припадъци при 6-Hz тест. За разлика от това, V6p пептидът показва конвулсивен ефект при ivPTZ теста и неактивност при 6-Hz тест. Нито едно от изследваните съединения не влияе на моторната координация, т.е. не проявява невротоксичност при ротарод теста. Най-вероятният механизъм на действие на пептидните молекули с антиконвулсивна активност е свързването им с капа-опиоидния рецептор. Включването на аминокиселинов остатък в позиция 1 в структурата на Валорфина заслужава допълнителни неврофармакологични изследвания.

Новосинтезираните съединения бяха оценени и *in vivo* за потенциална антиноцицептивната активност, при острата и възпалителна болкова реакция с помощта на формалинов тест. Експериментите бяха проведени върху възрастни мъжки ICR мишки (публикация № **A23**).

В публикация № **A20** бе разработен прост и бърз електрохимичен метод за селективно определяне на мед във водни проби с използване на нетоксични и лесно разградими пептидни молекули, каквито са аналозите на VV-хеморфин-5. Пептидният сензор осигурява отличен електрохимичен сензорен отклик с ниска граница на откриване ($0,188 \text{ ng ml}^{-1}$).

- В научен труд № **A19** са представени синтезът, охарактеризирането и антиконвулсивната активност на нови аналози на VV-хеморфин-7, модифицирани в позиция 4 и 7 с неприродни аминокиселини, следвайки структурата Val-Val-Tyr-Xxx-Trp-Thr-Yyy-Arg-Phe-NH₂, където Xxx е Ac5c (1-аминоциклопентанкарбоксилна киселина) или Ac6c (1-аминоциклохексанкарбоксилна киселина), а Yyy е Dap (диаминопропанова киселина) или Dab (диаминобутанова киселина). Новите пептидни аналози бяха получени чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc-стратегия. Еднократна интрацеребровентрикуларна (i.c.v.) инжекция в дози съответно 5, 10 и 20 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ беше дадена преди оценяване с помощта на интравенозен пентилентетразолов гърчов тест (ivPTZ) и 6-Hz психомоторен тест при експериментални модели у мишки. За да изясним връзката структура-

биологична активност, на новите модифицирани пептидни аналози бяха определени някои физикохимични характеристики. FT-IR спектрите и техните втори производни на Амид I, II и III ивиците на пептидните молекули предполагат наличието на β -листови конформации. Аналози 4 и 5 на VV-хеморфин-7 са най-активни спрямо ivPTZ теста с ефект, сравним с този на пептид 1, използван като положителна контрола. С изключение на съединение 8, всички други тествани пептидни аналози са неефективни за повишаване на прага на клоничните гърчове. Нито едно от изследваните съединения не проявява невротоксичност при ротарот теста.

- Синтезирани, охарактеризирани и изследвани за антиконвулсивна активност спрямо три теста за остър припадък при експериментални модели ICR мишки са серия нови аналози на хеморфин-4, модифицирани с неприродни конформационно запречени аминокиселини, следвайки структурата *Aaa-Tyr-Xxx-Trp-Thr-NH₂*, където Aaa е нискомолекулният липофилен адамантилов остатък, а Xxx е Ac5c (1-аминоциклопентанкарбоксилна киселина) или Ac6c (1-аминоциклохексанкарбоксилна киселина). Новите синтетични невропептиди бяха получени чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc-стратегия. От шестте синтезирани пептидни аналози, P4-5 е най-активен в дози от 1 и 3 μ g в трите гърчови теста. Активността на тестваните аналози спрямо психомоторна гърчова активност намалява в реда: P4 > P4-3 = P4-4 > P4-2 > Ang IV при MES, P4-4 $\geq$ P4-1 > P4-3 > P4-2 > P4 > Ang IV при 6-Hz тест и P4-4 = P4-3 > P4-2 = P4 > Ang IV при ivPTZ тест. Нито едно от изследваните съединения не проявява невротоксичност при ротарод теста за оценка на минимално двигателно увреждане. Получените резултати показват, че най-важни за свързването на пептидните лиганди с активната част на IRAP рецептора, са директните H-връзки, йонните и хидрофобни взаимодействия. От направените изследвания относно връзката структура-биологична активност можем да предположим, че замяната на аминокиселината пролин в позиция 2 с конформационно запречени аминокиселини, както и въвеждането на адамантановия остатък откъм N-края в молекулата на хеморфин-4, определят множество целеви системи, които могат да провокират антиконвулсивен ефект при новосинтезираните съединения (научен труд № A22).
- В научен труд № A26 е синтезиран, охарактеризиран и изследван нов аналог на хемофин-4, съдържащ азобензен, като са оценени и неговите спектрални, електрохимични и биологични ефекти. Хибридният пептид е получен, чрез модифициран твърдофазен пептиден синтез по Fmoc-стратегия. Съединението представлява новосинтезиран и непроучен хемосензор на пептидна основа, съдържащ азобензен в странична верига. В зависимост от полярността на разтворителя, азопептида има различни спектрални и електрохимични свойства в двете транс-/цис-състояния. Установено бе, че и интензитетът на тяхната флуоресценция и волтаметричното поведение зависят както от полярността на разтворителите, така и от вида на изомерите на азопептидното съединение. Новият биопептид Azo-Tyr-Pro-Trp-Thr-NH₂ бе

изследван и *in vivo* за потенциална антиконвулсивна активност с помощта на 6 Hz тест за психомоторен припадък и максимален електрошоков тест (MES) при ICR мишки. Измерът на цис-Az-H4 показва по-силна ефективност от транс-Az-H4, както спрямо 6 Hz-индуцираните психомоторни припадъци, така и при тонично-клоничните припадъци при максималния електрошоков гърчов тест със 100% ефективност, наблюдавана в най-ниската доза от 1 µg, приложена интрацеребровентрикуларно у мишки. Нито един от тестваните изомери не показва невротоксичност при ротарод теста. Резултатите показват, че модифицираният биопептид в N-края на хеморфин-4 с азобензен заслужава както по-нататъшни биологични изследвания, така и използването му като потенциален хемосензор за определяне на рН.

I.2. Синтез, охарактеризиране и изследване на биологичната активност на нови опиоидни пептиди, аналози на ноцицептина и ендоморфина.

Ноцицептинът е опиоиден неuropeпид, който участва в модулирането на множество процеси, контролирани от централната нервна система. Той оказва влияние върху усещанията за болка и страх, върху двигателната активност, обучението и други. В периферната нервна система ноцицептинът повлиява функциите на сърдечно-съдовата, храносмилателната, отделителната и дихателната системи. Опиатните аналгетици са широко използвани като болкоуспокояващи средства. Изследването на ендогенните опиоиди е с цел откриване на аналгетик с по-малко странични ефекти. Посъществените приноси в това направление могат да се обобщят както следва:

- Бяха синтезирани, пречистени и охарактеризирани два нови N/OFQ(1-13)NH₂ аналози, в които N-крайната аминокиселина (фенилаланин) е заместена с 1-[(метоксифосфоно)метиламино]циклоалканкарбоксилна киселина, съдържаща седем AFC7-N/OFQ(1-13)NH₂, (NC7) или осем членен циклоалканов пръстен AFC8-N/OFQ(1-13)NH₂, с цел изследване на симпатико-вагусовия баланс, имащ отношение върху артериалното налягане. Бяха изследвани бързите колебания на интерпулсовия интервал (IPI) при будни нормотензивни плъхове порода Wistar. Резултатите показаха, че NC7 предизвиква изместване на симпатико-вагусовия баланс в резултат на понижаването на мощността на симпатиково медираните осцилации, докато NC8 въвлича механизми, отговорни за дълготрайната регулация на сърдечната честота (публикация № 45).
- С цел получаване на по-мощни аналгетични съединения, чрез твърдофазен пептиден синтез беше синтезирана нова серия от хексапептиди, съдържащи β²-триптофанови аналози. Триптофана в позиция 4 и 5, съответно в Ac-Arg-Phe-Met-Trp-Met-Lys-NH₂ (опиоид рецепторен антагонист) и Ac-Arg-Tyr-Tyr-Arg-Trp-Lys-NH₂ (мощен и селективен агонист на NOP-рецептора), беше заместен с остатъци от (S)-2-(1-метил-1H-индол-3-ил) пропионова киселина и (S)-2-(5-метокси-1H-индол-3-ил) пропионова киселина. Аналгетичният ефект на новосинтезираните съединения е оценен върху мъжки плъхове порода Wistar. Резултатите показаха, че замяната на триптофана с β²-триптофанови

аналози на 4-то място (Ac-Arg-Phe-Met-Trp-Met-Lys-NH₂) води до увеличаване на аналгетичния ефект. Получените резултати ни позволяват да предположим, че за проявления от новосинтезираните съединения ефект, участват както опиоидните, така и NOP рецепторите. (публикация № *A1* и *A3*).

- Ендоморфините са малки ендегенни опиоидни пептиди, които се произвеждат от организма и действат за намаляване на болката. Те са тетрапептиди с най-висок афинитет и селективност към μ -опиоидния рецептор. В публикация № *A7* описваме синтеза и охарактеризирането на нови N-модифицирани аналози на ендоморфините, съдържащи фосфонатна група. Пептидите бяха получени чрез твърдофазен пептиден синтез, а фосфонатния остатък бе въведен с помощта на модифицирана от нас реакция на Кабачник-Филдс.

II. Синтез и охарактеризиране на нови хидантоинови производни.

Хидантоините и техните производни намират широко приложение в различни области на науката, производството и бита. Особено ценно е използването на някои от тях като лекарствени средства. Редица производни на хидантоините се използват като средства против епилепсия, аритмия, противотуморни агенти, при лечение на астма, като инхибитори на алдозоредуктазите и други. Хидантоините представляват интерес и като изходни продукти за синтеза на непротеиногенни аминокиселини и пептиди с тяхно участие. Известно е, че хидантоините, които са заместени при C-5, са важни лекарствени средства. Откритието на антиконвулсивните ефекти на 5-етил-5-фенилхидантоина и използването му като антиепилептично средство, провокира синтезирането и изследването на голям брой 5,5'-дизаместени хидантоини, намерили различно приложение в медицината. Хидантоиновото производно, което има най-голямо значение като лекарствен продукт, е 5,5'-дифенилхидантоин (Фенитоин), известен също и като Дилантин, и Епанутин. В това направление бяха постигнати следните по-съществени приноси:

- За целите на изследванията, бе необходимо да бъдат синтезирани препаративни количества от лигандите 3-амино-5,5'-диметилхидантоин и 3-амино-5,5'-дифенилхидантоин. Те бяха получени при взаимодействието на съответния C-5 заместен хидантоин и хидразин хидрат по модифициран от нас метод. Получените изходни лиганди бяха пречистени и охарактеризирани с помощта на съвременни техники и методи. Производните на хидантоина, както и техните комплекси с йони на преходни метали се изучават интензивно през последните години, поради широкото им приложение в различни сфери на медицинската практика. Структурните характеристики на хидантоините и техните метални комплекси са интересни от гледна точка на разработването както на нови лекарствени средства, така и за по-доброто разбиране на връзката между структура и активност (публикации № *A4*, *A9*, *A10*, *A18* и *A25*). В публикация № *A4* са представени синтезът, спектралното охарактеризиране, и *in vitro* противотуморната активност на две нови комплексни съединения на 3-амино-5,5'-диметилхидантоина с Cu(II) и Co(II) йони. Изследваните съединения проявяват различна антипролиферативна активност спрямо HT29, MDA-MB-231, HepG2 и HeLa клетъчни линии след 24 часа третиране. Най-чувствителни са HepG2 клетките при различни концентрации

на тестваните съединения, последвани от HT29. В статия №49 са представени синтезът и охарактеризирането на нови комплексни съединения на 3-амино-5,5'-дифенилхидантоина с Cu(II). Анализите показаха, че 3-амино-5,5'-дифенилхидантоина действа като бидентантен лиганд, включващ карбонилния кислород и азотния атом на аминогрупата при координирането на металния йон. Получените резултати ни дадоха основание да разширим и задълбочим нашите изследвания, като синтезираме и анализираме нови комплексни съединения на 3-амино-5,5'-диметилхидантоин с Ni(II) и Zn(II) йони, които биха били полезни за бъдещо разработване на методи за определяне на посочените метали в различни среди (публикация № A10). С цел намирането на практическо приложение, както и поради своите благоприятни електрически и оптични свойства, част от синтезираните лиганди и комплексни съединения, като Cu(II) 3-амино-5,5'-диметилхидантоин (CLP) и Ni(II) 3-амино-5,5'-диметилхидантоин (NLP) с различна концентрация, бяха приложени в композитни филми на азополимера PAZO (публикация № A18 и A25).

- Синтезирани, пречистени и охарактеризирани са четири циклоалканспирохидантоини с 5-, 6-, 7- и 8-членни пръстени: 1,3-дiazаспиро[4.4]нонан-2,4-дион (CSH (5)); 1,3-дiazаспиро[4.5]декан-2,4-дион (CSH (6)); 1,3-дiazаспиро[4.6]ундекан-2,4-дион (CSH (7)); и 1,3-дiazаспиро[4.7] додекан-2,4-дион (CSH (8)) с цел по-задълбочено изучаване на механизма и електрохимичното поведение на тези биологично активни съединения. Те бяха получени по реакцията на *Bucherer-Bergs* от съответните циклични кетони под действието на KCN и (NH₄)₂CO₃. Предложените механизми на изследваните циклоалканспиро-5-хидантоини биха могли да бъдат от съществено значение по отношение на разкриването на основните пътища, по които такива съединения упражняват своето биохимично действие (публикация № A8).
- В публикации № A13, A17, A21 и A24 са представени синтезът, структурните, фотофизични и електрохимични свойства на серия нови Шифови бази, съдържащи хидантоинов пръстен. Съединенията са синтезирани чрез реакция на кондензация между 3-амино-5,5'-диметилхидантоин / 3-амино-5,5'-дифенилхидантоин и различни ароматни алдехида. Всички съединения бяха охарактеризирани с помощта на различни спектрални и електрохимични методи, както и с рентгеноструктурен анализ на монокристал. Също така, бе изследвано и фотохромното и молекулно превключващо поведение на азометиновите -CH=N-групи в Шифовите бази. Тези съединения представляват новосинтезирани и непроучени фотопревключватели с различни спектрални свойства в двете транс-/цис-състояния, в зависимост от полярността на разтворителите. Резултатите показаха, че варирайки средата от разтворителя, може да се постигне директен контрол върху двупосочното поведение на превключване от един тип към друг, и могат да се отнасят като фотохромни превключватели.

Индикация за актуалността и значимостта на проведените научни изследвания, са забелязаните през последната година многобройни цитирания в Световната литература върху хидантоините и техните производни.

РЕЗЮМЕТА НА ОСНОВНИТЕ НАУЧНИ РЕЗУЛТАТИ

- A1.** Rositsa Zamfirova, Nikola Pavlov, **Petar Todorov**, Polina Mateeva, Jean Martinez, Monique Calmès, Emilia Naydenova. Synthesis and changes in affinity for NOP- and opioid receptors of novel hexapeptides containing β^2 -tryptophan analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Volume 23, Issue 14, 15 July 2013, Pages 4052-4055, (IF=2.338).

Настоящото проучване е свързано със синтеза и биологичната активност на нови аналози на Ac-RFMWMK-NH₂ и Ac-RYYRWK-NH₂, модифицирани съответно в позиции 4 и 5, чрез въвеждане на новосинтезирани β^2 -триптофанови аналози. Trp е заместен с (S)-2-(1-метил-1H-индол-3-ил) пропионов остатък и/или с (S)-2-(5-метокси-1H-индол-3-ил) пропионов остатък. Биологичната активност (pEC₅₀ и E_{max}) на тези съединения беше тествана с електрически стимулирани гладко-мускулни препарати от *vas deferens* на плъхове порода Wistar. 5-Метокси- β -триптофановата група води до обръщане афинитета на съединенията.

- A2.** Denitsa Mitkova, Angelina Stoyanova-Ivanova, Stela Georgieva, **Petar Todorov**, Nikolay Kozarev, Yury A. Ermakov, Victoria Vitkova. Charged lipid bilayers in aqueous surroundings with low pH. *Book Series: Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*, Volume 18, 2013, pages 1-20. ISSN 1554-4516, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-411515-6.00001-1>.

В настоящото изследване са обсъдени експериментални резултати по морфология, стабилност и механични свойства на двукомпонентни заредени липидни бислоеве във водни разтвори с контролирана йонна сила при различно pH на средата. Наблюденията чрез фазово-контрастна и флуоресцентна микроскопия разкриват съвместно съществуване на две структурни фази в мембраните от стеароил олеоил фосфатидилхолин (SOPC), съдържащи повече от 10 mol% от заредения липиден диолеил фосфатидилсерин. Методът на анализ на флукуацията на формата на квазисферични везикули, беше приложен за определяне на модула на огъване на хомогенни течни слоеве. Стойността на модула на огъване, получена за 0,2 моларна фракция на заредения липид, е около 30% по-висока от модула на огъване на не заредените (SOPC) мембрани в същия разтвор. Експерименталните данни, представени и обсъдени в доклада, съвпадат с предишни наши резултати за свойствата на заредените двуслойни мембрани, измерени чрез микроманипулация на везикулите.

- A3.** Adriana Bocheva, Hristina Nocheva, Nikola Pavlov, **Petar Todorov**, Monique Calmès, Jean Martinez, Emilia Naydenova. Synthesis and analgesic effects of novel β^2 -tryptophan hexapeptide analogs. *Amino Acids*, 2013, October 2013, Volume 45, Issue 4, pp 983-988, (IF=3.653).

С цел разработване на по-мощни аналгетични вещества беше синтезирана нова серия от хексапептиди, съдържащи β^2 -триптофанови аналози. Trp в позиция 4 и 5, съответно в Ac-Arg-Phe-Met-Trp-Met-Lys-NH₂ (опиоид рецепторен антагонист) и Ac-Arg-Tyr-Tyr-Arg-Trp-Lys-NH₂ (мощен и селективен агонист на NOP-рецептора) беше

заместен с остатъци от (S)-2-(1-метил-1H-индол-3-ил) пропионова киселина и (S)-2-(5-метокси-1H-индол-3-ил) пропионова киселина. Аналгетичният ефект на четирите новосинтезирани съединения е оценен върху мъжки плъхове порода Wistar с PP и NP тестове. Освен това е направена оценка върху механизмите на действие на всяко съединение с помощта на специфични антагонисти - налоксон за опиоидните рецептори и JTC801 за NOP рецептора. Замяната на Trp с β^2 -триптофан аналози на 4-то място (Ac-Arg-Phe-Met-Trp-Met-Lys-NH₂) доведе до увеличаване на аналгетичния ефект. Получените резултати ни позволяват да предположим, че за проявления от новосинтезираните съединения аналгетичен ефект, участват както опиоидните, така и NOP рецепторите.

- A4.** Stela Georgieva, **Petar Todorov**, Diana Wesselinova. Synthesis, Characterization and Cytotoxic activity of Novel Cu(II) and Co(II) Complexes with 3-amino-5,5-dimethylhydantoin. *Comptes Rendus Chimie* 2014, Volume 17, Issue 12, December 2014, Pages 1212-1220, (IF=1.713).

Настоящият доклад разглежда синтезата, спектралното охарактеризиране, както и *in vitro* противотуморната активност на две комплексни съединения на 3-амино-5,5-диметилхидантоина с Cu (II) и Co(II) йони. Структурите на съединенията бяха потвърдени чрез IR, UV-Vis спектрометрия, волтаметрия и елементарен анализ. Цитотоксичните ефекти на новите комплекси от мед (II) и кобалт (II) с 3-амино-5,5-диметил хидантоин бяха тествани върху човешки туморни клетъчни линии. Всички изследвани съединения проявяват различни антипролиферативни ефекти спрямо HT29, MDA-MB-231, HepG2 и HeLa клетъчни линии след 24 часово третиране. Най-чувствителните са HepG2 клетките при различни концентрации на двете тествани съединения, последвани от HT29.

- A5.** R. A. Girchev, P. P. Markova, **P.T. Todorov**, E. D. Naydenova. Sympathovagal balance after application of N-modified nociceptin analogues. *Bulgarian Chemical Communications*, Volume 47, Number 1 (pp. 45 – 49) 2015, (IF=0.32).

Изследвани са ефектите на два новосинтезирани N/OFQ(1-13)NH₂ аналози в които N-крайната аминокиселина (фенилаланин) е заместена с 1-[(метоксифосфоно) метиламино]циклоалканкарбоксилна киселина, съдържаща седем AFC7-N/OFQ(1-13)NH₂, (NC7) или осем членен циклоалканов пръстен AFC8-N/OFQ(1-13)NH₂, върху бързите колебания на интерпулсовия интервал (IPI) и върху симпатико-вагусовия баланс у будни нормотензивни плъхове Wistar. Ефектите на NC7 или на NC8, приложени *i.v.*, бяха изследвани в 9 последователни 10 минутни интервала. Спектрограмите на IPI бяха получени чрез бърза Фурие трансформация. Бяха изследвани мощностите на колебания (P) в зоните на ниски (LF), средни (MF) и високи (HF) честоти, характерни за плъхове (20-195; 195-605; 605-3000 mHz). Симпатико-вагусовият баланс беше определен чрез отношението PMF/PHF. Приложението на NC7 предизвика понижение на стойността на отношението PMF/PHF от 0.52±0.04 на 0.31±0.08 (p<0.05); 0.24±0.06 (p<0.01) и на 0.23±0.07, (p<0.01) в първите три 10 минутни интервала, в резултат на понижението на предимно симпатиково медираните осцилации PMF на IPI. Мощността на опосредстваните от парасимпатикуса колебания PHF на IPI не бяха

повлияни от приложението на NC7. Приложението на NC8 не засегна бързите колебания на IPI и симпатико-вагусовия баланс, обаче предизвика трайно понижаване на сърдечната честота в продължение на 70 минути, ($p < 0.05$). Нашите резултати показват, че NC7 предизвиква изместване на симпатико-вагусовия баланс в резултат на понижаването на мощността на симпатиково медираните осцилации, докато NC8 въвлича механизми, отговорни за дълготрайната регулация на сърдечната честота.

- A6.** S. Georgieva, **P. Todorov**, Z. Genova, P. Peneva. Interdisciplinary Project for Enhancing Students' Interest in Chemistry. *Chemistry: Bulgarian Journal of Science Education. Khimiya*. 25, 122-136 (2016). *SJR* (2014) = 0.210.

Настоящото изследване представя студентски изследователски проект за вземане и анализ на проби по основни физикохимични показатели на питейна вода от различни региони на България. Проектът е включен в учебната програма на паралелно изучаваните във втори курс дисциплини: органична и аналитична химия. Студентите анализираха водни проби за рН, твърдост, органични съединения, натрий, калий и йони на тежки метали като кадмий, мед, желязо, олово и манган, използвайки титриметрични методи, атомна абсорбция и атомно-емисионна спектрометрия, потенциометрия и волтамперометрия. В статията са описани и предлабораторни дейности, свързани с изпълнение на „проекта за качество на водата“, за да се повишат мотивацията и уменията за критично мислене на студентите. Въз основа на проведените изследвания, „водният проект“ стана изключително популярен сред студентите, като същевременно ги предизвика да мислят критично и да работят самостоятелно върху заложи задачи.

- A7. Petar T. Todorov**, Petia N. Peneva, Zlatina N. Genova, Emilia D. Naydenova. Synthesis and characterization of new endomorphin analogs with N-terminal phosphonate. *Bulgarian Chemical Communications, Special Issue E*, (pp. 31–34) 2017. (*IF*=0.32)

Ендоморфините са малки ендогенни опиоидни пептиди, които се произвеждат от организма и действат за намаляване на болката. Те са тетрапептиди с най-висок афинитет и селективност към μ -опиоидния рецептор. В статията, ние описваме синтеза и охарактеризирането на нови ендоморфинови аналози, съдържащи фосфонатна група. Новите N-модифицирани аналози на ендоморфините, с фосфонатен остатък бяха получени с помощта на твърдофазен пептиден синтез. Фосфонатният остатък беше въведен чрез модификация на реакцията на Кабачник-Филдс. Невропептидите бяха пречистени с помощта на обратно-фазова високоефективна течна хроматография, бяха определени и молекулните им маси, използвайки електроспрей йонизационна масспектрометрия, а също така и специфичните ъгли на оптично въртене.

- A8.** S. Georgieva, **P. Todorov**, E. Naydenova. Investigation of redox mechanisms of biologically active hydantoin derivatives by different voltammetric methods. *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry*. 9 (2), 214-231, 2017. (*IF*=0.64)

Електрохимичното поведение на четири биологично активни циклоалкан спирохидантоини с 5-, 6-, 7- и 8-членни пръстени: 1,3-дiazаспиро [4.4] нонан-2,4-дион (CSH (5)); 1,3-дiazаспиро [4.5] декан-2,4-дион (CSH (6)); 1,3-дiazаспиро [4.6] ундекан-

2,4-дион (CSH (7)); и 1,3-дiazаспиро [4.7] додекан-2,4-дион (CSH (8)) е изследван при рН диапазон 1.81-12 чрез съвременни електрохимични техники като циклична волтаметрия (CV), диференциална импулсна волтаметрия (DPV) и квадратна вълнова волтаметрия (SWV). Електрохимичните изследвания са проведени върху висеща живачна капка (HMDE) при стайна температура. CSH (5) и CSH (6) при рН 5.50 и 7.63, и CSH (7) при рН 5.50 показаха единични квазиобратими пикове. За CSH (7) при рН 7.63 и CSH (8) при две стойности на рН бе доказана необратима природа на електродния процес. Изследван е и ефектът на скоростта на сканиране на сигнала, рН и концентрацията върху пиковия ток и пиковия потенциал. Броят на протоннообмен в електрохимичната реакция се определя от изместването на пиковия потенциал като функция на рН. Получените резултати от CV, SWV и DPV дадоха възможност да се предложи механизъм на редокси реакции на циклоалканеспиро-5-хидантоиновите производни. Предложените механизми на цитираните циклоалканеспиро-5-хидантоини биха могли да бъдат от съществено значение по отношение на разкриване на основните пътища, по които такива съединения упражняват своето биохимичното действие.

A9. S. Georgieva, **P. Todorov**. Spectroscopic and Voltamperometric studies of Cu(II) complex with 3-amino-5,5-diphenylhydantoin. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*. 53 (3), 465-472, 2018.

Работата разглежда синтеза на два нови Cu(II)-аминохидантоинови комплекси [CuAPh₂Cl₂(OH₂)₂]; [CuAPh₂(NH₃)₂]. Съединенията са охарактеризирани чрез спектроскопски и електрохимични методи. Процесите на комплексообразуване в системата Cu(II)-аминофенитоин (APh) бяха изучени чрез диференциална импулсна полярография (DPP), при температура 20 ± 1 °C, в амонячен буферен разтвор (рН = 8,2 ± 0,1) и при йонна сила I = 0,1. Обратимостта на електродната реакция на медните йони в електролитната среда бе доказана, което даде възможност за приложение на уравненията на De Ford и Hume и тези на Leden към данни, получени от диференциал импулсната полярография за доказване на стехиометрията на комплексните съединения. Доказано бе наличието на два комплекса (n = 1 и 2) при сравнително висока концентрация на лиганда (C_{Aph} = 2.10⁻⁴ ÷ 3.10⁻³ mol l⁻¹) и бяха изчислени техните константи. Атомно-абсорбционната спектроскопия и елементния анализ потвърдиха стехиометрията на съединенията. IR и UV/Vis спектрите показаха, че APh действа като бидентантен лиганд, включващ карбонилния кислород и азотния атом на аминокрупата при координирането на металния йон.

A10. Stela Georgieva, **Petar Todorov**, Artem Bezfamilnii, Anton Georgiev. Coordination behavior of 3-amino-5,5-dimethylhydantoin towards Ni(II) and Zn(II) ions: Synthesis, spectral characterization and DFT calculations. *Journal of Molecular Structure, Volume 1166, 15 August 2018, Pages 377-387 (IF=2.12)*

В представената работа са разгледани комплексообразователните свойства на 3-амино-5,5'-диметилхидантоин с Ni(II) и Zn(II) йони. За охарактеризиране на новосинтезираните комплекси са използвани UV/Vis, FTIR спектроскопия и електрохимични методи. За потвърждение на тяхната структура бяха направени и DFT квантово химични изчисления. Резултатите потвърдиха образуването на комплексни

съединения със стехиометрия 1:2, при рН стойности близки до физиологичните. Стабилността на съединенията в разтвор бе оценена чрез изчисляване на стойностите на стабилитетната константа, използвайки данни от диференциално импулсната полярография. Резултатите от изследването биха били полезни за бъдещо разработване на методи за определяне на посочените метали в различни среди.

A11. Petar Todorov, Petia Peneva, Daniela Pechlivanova, Stela Georgieva, Elena Dzhambazova. Synthesis, characterization and nociceptive screening of new VV-hemorphin-5 analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Volume 28, Issue 18, 1 October 2018, Pages 3073-3079. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.07.040>, (IF=2.448).

В настоящото изследване са представени синтеза и антиноцицептивната активност на нови аналози на VV-хеморфин-5, модифицирани в позиция 1 и 7 с непротеиногенни и/или природни аминокиселини следвайки структурата: Xxx-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-NH₂ и Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Yyy-NH₂, където Xxx е Ile или Aib и Yyy е Lys / Orn / Dap / Dab. Някои основни физикохимични показатели на изследваните пептиди като константи на киселинност и основност бяха определени, използвайки електрохимични методи. Всички тествани пептиди показаха краткотраен първоначален антиноцицептивен ефект, с изключение на пептид H2, съдържащ Dap в позиция 7 и характеризиращ се с продължителен и силен антиноцицептивен ефект, докато останалите пептидни аналози показаха по-променливи ефекти върху висцералната ноцицепция в зависимост от дозата и времето след инжектиране.

A12. Petar T. Todorov, Petia N. Peneva, Stela I. Georgieva, Jana Tchekalarova, Victoria Vitkova, Krassimira Antonova, Anton Georgiev. Synthesis, characterization and anticonvulsant activity of new azobenzene-containing VV-hemorphin-5 bio photoswitch. *Amino Acids* (2019) 51: 549-563, <https://doi.org/10.1007/s00726-018-02691-1>. (IF=3.063).

В настоящата работа са представени синтеза, охарактеризирането и изследването на биологичните свойства на нов пептиден аналог на VV-хеморфин-5, съдържащ азобензенов остатък по отношение на неговите E→Z фотофизични свойства, активирани от лъчение с дължина на вълната $\lambda=365$ nm. Съединението бе синтезирано чрез модифициран SPPS (твърдофазен пептиден синтез) метод по Fmoc-димеризационна стратегия. Електрохимичното поведение преди и след ултравиолетово облъчване на съединението бе изследвано с помощта на различни волтаметрични техники. Броят обменени електрони в редокси процеса, хетерогенната скоростна константа и коефициента на дифузия за двата E- и Z-изомера също бяха определени електрохимично. За изследване на ефекта на синтезирания азопептид върху електричните свойства на клетъчните мембрани бе измерен специфичният капацитет на липидните слоеве в основен физически модел на биомембрани, възпроизводим в лабораторни условия при контролиран мембранен състав и физикохимични параметри на заобикалящата водна среда. Резултатите показаха понижаване на мембранный капацитет в присъствието на азопептида, като по този начин осигуряват доказателства за възможни изменения в диелектричната пропускливост на двуслойния липиден слой. Пептидът (Val-Val-Tyr-

Pro-Trp-Thr-Gln)₂Azo е изследван и *in vivo* за предварителна антиконвулсивна активност чрез 6-Hz тест и интравенозен пентилентетразолов гърчов тест (PTZ) при мишки. Установено бе, че Z-изомерът намалява възможността за поява на гърчове, индуцирани от PTZ. Тези резултати показват, че Z-изомерът заслужава допълнителна оценка в други скринингови тестове за антиконвулсивна активност.

A13. Petar T. Todorov, Petia N. Peneva, Stela I. Georgieva, Rusi I. Rusew, Boris Shivachev, Anton Georgiev. Photochromic and molecular switching behaviour of new Schiff base containing hydantoin ring: Synthesis, characterization and crystal structure. *New Journal of Chemistry*, 2019. <http://dx.doi.org/10.1039/C8NJ05748F>, 43, 2740-2751 (IF=3.288).

В настоящото изследване са представени синтезът, структурните, фотофизични и електрохимични свойства на пет нови Шифови бази, съдържащи хидантоинов пръстен. Съединенията са синтезирани чрез реакция на кондензация между 3-амино-5,5'-диметилхидантоин и пет различни ароматни алдехида. Всички съединения бяха охарактеризирани с помощта на различни спектрални и електрохимични методи, както и с рентгеноструктурен анализ на монокристал. Фотохромното и молекулно превключващо поведение на азометиновите -CH=N- групи в Шифовите бази бяха изследвани чрез UV-Vis спектроскопия в реално време в DMF при облъчване с UV светлина с дължина на вълната $\lambda = 365$ nm за 90 минути (предимно E→Z), на тъмно - релаксация при стайна температура за 60 минути (най-вече Z→E) в спектралната област 250-600 nm при еднакви концентрации. Електрохимичните свойства на съединенията бяха изследвани върху стъклен платинен електрод (Pt-) в DMF, използвайки циклична волтаметрична (CV) техника преди и след UV облъчване. Обсъден е, също така и ефектът от функционалните групи в Шифовите бази върху редукционния потенциал. Електрохимичното проучване показва, че редукцията на -CH=N- групите е предимно квазиобратима с контролиран адсорбционен процес за (E)-3-((2-хидроксibenзилиден)амино)-5,5'-диметилимидазолидин-2,4-дион (SB2) и (E)-3-((4-(диметиламино)бензилиден)амино)-5,5'-диметилимидазолидин-2,4-дион (SB4) и междинен процес при останалите съединения.

A14. Petar Todorov, Miroslav Rangelov, Petia Peneva, Nadezda Todorova, Jana Tchekalarova. Anticonvulsant evaluation and docking analysis of VV-Hemorphin-5 analogues. *Drug Development Research*, Volume 80, Issue 4, page 425-437, 2019. DOI:10.1002/ddr.21514 (IF=1.902).

VV-Хеморфин-5 е ендегенен опиоиден пептид от семейството на Хеморфините с афинитет към опиоидните рецептори. Всички получени съединения са C-крайни амиди, следвайки структурния модел на VV-хеморфин-5, модифицирани в позиции 1 и 7 от неприродни и протеиногенни аминокиселини (Aaa-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-NH₂ и Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Aaa-NH₂) и бяха синтезирани чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc- стратегия. На пептидните аналози беше направен скрининг за наличие на антиконвулсивна активност спрямо три теста за остър припадък при експериментални модели ICR мишки, максимален електрошоков гърчов тест (MES) тест, 6 Hz тест за психомоторен припадък и инфузионен интравенозен

пентилентетразолов гърчов тест (ivPTZ). Тяхната невротоксичност бе оценена с ротарод теста. От всички тествани пептиди, най-голяма антиконвулсивна активност и в трите гърчови теста показва съединение V4, която е сравнима с VV-хеморфин-5 (V1), използван като положителна контрола. Докато пептидните производни V5, V6 и V7 проявяват антиконвулсанта активност при MES и 6 Hz теста, те са неактивни (V7) или показват проконвулсивен ефект (V5 и V6) при iv PTZ теста. Двигателната координация не се повлиява от новосинтезираните аналози на VV-Хеморфин-5. Резултатите от докинг проучването предполагат, че свързването с капа-опиоидния рецептор е най-вероятният механизъм на действие на пептидните производни с антиконвулсивна активност. Резултатите показват, че включването на неприродни и протеиногенни аминокиселини в позиция 1 и 7 в пептидната верига на VV-Хеморфин-5 заслужава допълнителна оценка в различни модели на епилепсия.

A15. Stela Georgieva, **Petar Todorov**, Petia Peneva. Investigation of electrochemical behavior of new hemorphin-5 analogue. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 54, 5, 947-951, 2019.

Биологично активен аналог на VV-хеморфин-5 (Валорфин: Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln) бе електрохимично охарактеризиран. В това отношение реакциите на окисление и адсорбция на пептида върху повърхността на електрода във фосфатен буферен разтвор са проучени и сравнени с тези на Валорфина и полярографски активен триптофан и тирозин. За изследване на интерфациалното поведение на производното на VV-хеморфин-5 (H2) бе използвана волтамперометрия с платинен електрод като работен електрод, Ag/AgCl, (3 mol L⁻¹) KCl електрод като еталонен и въглероден електрод като спомагателен електрод. Анализът на формата на вълната, рН зависимостта, и концентрационната зависимост на процеса на окисляване показва, че производното на валорфина е адсорбирано върху Pt-електрод. Откриването на ниски концентрации (2x10⁻⁵ mol L⁻¹) води до възможността от прилагането на волтамперометрията като метод за определяне на ниски концентрации от този клас пептиди.

A16. **Petar Todorov**, Petia Peneva, Jana Tchekalarova, Miroslav Rangelov, Stela Georgieva, Nadezhda Todorova. Synthesis, characterization and anticonvulsant activity of new series of N-modified analogues of VV-Hemorphin-5 with aminophosphonate moiety. *Amino Acids* (2019), <https://doi.org/10.1007/s00726-019-02789-0>. November 2019, Volume 51, Issue 10–12, pp 1527–1545. (IF=3.063)

Нова серия от N-модифицирани аналози на VV-хеморфин-5 съдържащи аминокиселинен остатък са синтезирани, охарактеризирани и изследвани за антиконвулсивна активност. Новите пептидни аналози бяха синтезирани чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc-стратегия. Биологичната активност на съединенията бе оценена чрез провеждането на интравенозен пентилентетразолов гърчов тест (ivPTZ) и 6-Hz психомоторен тест при експериментални модели у мишки. Острата невротоксичност бе определена с помощта на ротарод тест. Използвайки различни волтамперометрични техники, бяха определени окислително-редукционните потенциали на стъкло въглероден електрод (GC) и киселинно-алкалните им свойства,

като рКа стойности на тези пептидни аналози бяха сравнени с тези на пептиди, съдържащи тирозин и триптофан. От всички тествани пептидни аналози, V3p е най-активен спрямо ivPTZ теста с ефект, сравним с този на VV-хеморфин-5 (V1), използван като положителна контрола. Пептидни аналози V2p-V5p показаха зависимости от дозата психомоторни припадъци при 6-Hz тест. За разлика от това, V6p пептидът показва конвулсивен ефект при iv PTZ теста, и неактивност при 6-Hz тест. Нито едно от изследваните съединения не влияе на моторната координация, т.е. не проявява невротоксичност при ротарод теста. Резултатите от докинг проучването предполагат, че свързването с капа-опиоидния рецептор е най-вероятният механизъм на действие на пептидните производни с антиконвулсивна активност. Резултатите показаха, че включването на аминоксифонатен остатък в позиция 1 в структурата на VV-хеморфин-5 заслужава допълнителна оценка в различни модели на епилепсия.

A17. Anton Georgiev, **Petar Todorov**, Deyan Dimov. Excited State Proton Transfer and E/Z photoswitching performance of 2-hydroxy-1-naphthalene and 1-naphthalene 5,5'-dimethyl- and 5,5'-diphenylhydantoin Schiff bases. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2019.112143>. 2019, Volume 386, 1 January 2020, 112143, (IF=4.291).

В настоящото изследване са представени синтезът и фотоиндуцираната енол/кето тавтомеризация, както и E/Z фоточувствителното поведение на четири Шифови бази - 3-амино-5,5'-диметил- и -5,5'-дифенилхидантоинови производни, съдържащи 2-хидрокси-1-нафтил и 1-нафтилови остатъци. Тези съединения представляват новосинтезирани и непроучени фотопревключватели с различни спектрални свойства в двете състояния, в зависимост от полярността на разтворителите. Измерванията на флуоресценцията в стационарно състояние бяха извършени в различни разтворители и резултатите показаха силна чувствителност от полярността на средата върху ефективността на преобразуване (η_T) на възбуденото състояние и вътремолекулен протонен трансфер. Наблюдава се висока степен на превръщане в полярни разтворители като AcCN и MeOH, докато в неполярен 1,4-DOX е ниска. Количественото и качествено изпълнение в поведението на Шифовите бази, бе оценено от степента на фотоизомеризация (R) и скоростната константа (k). Установено е, че 2-хидрокси заместените Шифови бази имат по-нисък R (9,6% и 19,7%), в сравнение с не заместените (32,4% и 37,7%). Скоростта на релаксация Z/ E ($k=3.62 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ и $k=5.49 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$) е необичайно по-бавна в сравнение с много бързата E/ Z фотоконверсия ($k=4.07 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ и $k=1.08 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$). Поведението на съединенията бе анализирано чрез оптимизация на молекулната геометрия на енолни и кето тавтомери, както и на E- и Z-изомери чрез DFT анализ. Съотношението на емисиите на енолни и кето тавтомери на 2-хидрокси заместените бази е изследвана чрез флуоресцентна спектроскопия в реално време при лазерно облъчване при 355 nm.

A18. Georgi Mateev, Ani Stoilova, Dimana Nazarova, Lian Nedelchev, **Petar Todorov**, Stela Georgieva, Yordanka Trifonova, Vanya Lilova. Photoinduced birefringence in PAZO polymer nanocomposite films embedded with particles of biologically active

metal complexes. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 54, 6, 1123-1127, 2019.

Композитните материали на базата на азо полимери, отложени с метални частици, привличат все по-голямо внимание поради своите благоприятни електрически и оптични свойства. Получените комплексни съединения Cu(II) 3-амино-5,5'-диметилхидантоин (CLP) и Ni(II) 3-амино-5,5'-диметилхидантоин (NLP) с различна концентрация, бяха приложени в композитни филми на азополимера (поли [1-[4-(3-карбокси-4-хидроксифенилазо)бензенсулфонамидо]-1,2-етандиил, натриева сол]), накратко PAZO. Фотоиндуцираните свойства на тънките филмови материали легирани с комплексите също бяха изследвани. Фотоиндуцираните свойства се измерват чрез класическа поляриметрична настройка, при която вертикално поляризиран He-Cd лазер, излъчващ при $\lambda = 442 \text{ nm}$, се използва като помпа лазер, докато DPSS лазер, излъчващ при $\lambda = 635 \text{ nm}$, се използва като сонда лазер. В статията е обсъдено и влиянието на концентрацията на легиращите вещества върху максимално индуцираното пречупване на лъча и времето на реакция.

A19. Petar Todorov, Petia Peneva, Jana Tchekalarova, Stela Georgieva. Potential anticonvulsant activity of novel VV-hemorphin-7 analogues containing unnatural amino acids: synthesis and characterization. *Amino Acids* (2020) 52: 567–585, DOI: 10.1007/s00726-020-02836-1, (IF=3.52).

Синтезирани, охарактеризирани и изследвани за антиконвулсивна активност са нови аналози на VV-хеморфин-7, модифицирани в позиция 4 и 7 с неприродни аминокиселини, следвайки структурата Val-Val-Tyr-Xxx-Trp-Thr-Yyy-Arg-Phe-NH₂, където Xxx е Ac5c (1-аминоциклопентанкарбоксилна киселина) или Ac6c (1-аминоциклохексанкарбоксилна киселина), а Yyy е Dap (диаминопропанова киселина) или Dab (диаминобутанова киселина). Новите пептидни аналози бяха получени чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc-стратегия. Еднократна интрацеребровентрикуларна (i.c.v.) инжекция в дози съответно 5, 10 и 20 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ беше дадена преди оценяване с помощта на интравенозен пентилентетразолов гърчов тест (ivPTZ) и 6-Hz психомоторен тест при експериментални модели у мишки. Острата невротоксичност бе определена с помощта на ротарод тест. За да изясним връзката структура - биологична активност, на новите модифицирани пептидни аналози бяха определени някои физикохимични характеристики. FT-IR спектрите и техните втори производни на Амид I, II и III ивиците на пептидите предполагат наличието на β -листови конформации. Изчисляването на изоелектричните точки чрез потенциометрично титруване на дисоциационните константи е в диапазона от 9,79 до 10,84. В това изследване за първи път са докладвани и окислително-редукционните потенциали на гуанидина в Arg-остатък на пептиди от такъв тип, съдържащи аргинилови и тирозилови остатъци в различна среда и повърхност на електрода. Аналози 4 и 5 на VV-хеморфин-7 са най-активни спрямо ivPTZ теста с ефект, сравним с този на пептид 1, използван като положителна контрола. С изключение на съединение 8, всички други тествани пептидни аналози са неефективни за повишаване на прага на клоничните гърчове. Пептиден аналог 5 показва 100% ефективност при 6-Hz тест, докато останалите седем аналози на VV-хеморфин-7 имат дозозависима активност спрямо психомоторни

гърчове, сравнима с 1. Нито едно от изследваните съединения не проявява невротоксичност при ротарот теста.

- A20.** Stela Georgieva, **Petar Todorov**, Petia Peneva, Marian Varbanov, Kristina Gartsyanova. VV-Hemorphin-5 analogue for trace copper determination in water samples. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 17, pages 2885–2894 (2020), (IF=2.019). DOI: 10.1007/s13738-020-01968-1

Природните и антропогенните източници произвеждат главно метални йони, които могат да се натрупват в седименти, които имат значително въздействие върху околната среда в местните райони, особено за тяхното качество на речните води. Анализът на околната среда прилага химически сензори, притежаващи присъщата способност да откриват в реално време аналити като катиони, аниони или малки молекули във водните системи. В тази връзка, целта на това изследване бе разработването на прост и бърз електрохимичен метод за селективно определяне на мед във водни проби с използване на нетоксични и лесно разградими пептидни молекули, какъвто е хеморфиновият аналог. Аналитични характеристики като чувствителност, линеен динамичен обхват (LDR), граница на откриване (LOD) и граница на количествено определяне (LOQ) също бяха обсъдени. Резултатите показаха, че пептидният сензор осигурява отличен електрохимичен сензорен отклик с ниска граница на откриване ($0,188 \text{ ng ml}^{-1}$). Точността на предложения метод е оценена с помощта на относителното стандартно отклонение и е 0,7%.

- A21.** **Petar Todorov**, Stela Georgieva, Petia Peneva, Rusi Rusew, Boris Shivachev, Anton Georgiev. Experimental and theoretical study of bidirectional photoswitching behavior of the 5,5'-diphenylhydantoin Schiff bases: synthesis, crystal structure and kinetics approaches. *New Journal of Chemistry*, <https://doi.org/10.1039/D0NJ03301D> 2020, 44, 15081-15099, (IF=3.591).

В настоящото изследване са представени синтезът и охарактеризирането на четири нови 5,5'-фенилхидантоинови Шифови бази, съдържащи различни ароматни остатъци. Съединенията са синтезирани чрез реакция на кондензация между 3-амино-5,5'-дифенилхидантоин и различни ароматни алдехида. Връзката между структурата и свойствата е изследвана чрез рентгеноструктурен анализ, оптични и електрохимични методи, както и DFT изчисления по отношение на тяхната E/Z- и енол/кето фотоизомеризация. Големите предизвикателства при фотоиндуцираното движение са постигането на контрол и стабилност при двата изомера. Двупосочното поведение на фотопревключването, под действието на разтворител, беше изследвано в неполярния 1,4-диоксан и апротонния полярен разтворител DMF. Наблюдава се Т-тип фотохромизъм в 1,4-DOX и противоположно поведение в DMF като Р-тип превключватели (бистабилна система). Получените резултати показаха, че чрез вариране на среда от разтворител може да се постигне директен контрол върху двупосочното поведение на превключване от Т-тип към Р-тип.

- A22.** **Petar Todorov**, Petia Peneva, Jana Tchekalarova, Stela Georgieva, Miroslav Rangelov, Nadezhda Todorova. Structure–activity relationship study on new

Hemorphin-4 analogues containing steric restricted amino acids moiety for evaluation of their anticonvulsant activity. *Amino Acids* (2020) 52, pages 1375–1390, <https://doi.org/10.1007/s00726-020-02898-1>, (IF=3.52).

Синтезирани, охарактеризирани и изследвани за антиконвулсивна активност спрямо три теста за остър припадък при експериментални модели ICR мишки, максимален електрошоков гърчов тест (MES) тест, 6 Hz тест за психомоторен припадък и инфузионен интравенозен пентилентетразолов гърчов тест (ivPTZ) са серия нови аналози на хеморфин-4, модифицирани с неприродни конформационно запречени аминокиселини, следвайки структурата Aaa-Tyr-Xxx-Trp-Thr-NH₂, където Aaa е нискомолекулният липофилен адамантилов остатък, а Xxx е Ac5c (1-аминоциклопентанкарбоксилна киселина) или Ac6c (1-аминоциклохексан карбоксилна киселина). Новите синтетични неuropeптиди бяха получени чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc-стратегия. Тяхната невротоксичност бе оценена с ротарод теста. Бяха определени дисоциационните константи (pKa) и изоелектрични точки (pI) на пептидните аналози чрез потенциометрично титруване. За да охарактеризираме структура на новосинтезираните хеморфинови аналози, бяха снети ИЧ-спектри в диапазона от 4000 до 500 cm⁻¹. Като положителна контрола бе използван хексапептида Ang IV. От шестте синтезирани пептидни аналози, P4-5 е най-активен в дози от 1 и 3 µg в трите гърчови теста. Активността на тестваните аналози спрямо психомоторна гърчова активност намалява в реда: P4 > P4-3 = P4-4 > P4-2 > Ang IV при MES, P4-4 ≥ P4-1 > P4-3 > P4-2 > P4 > Ang IV при 6-Hz тест и P4-4 = P4-3 > P4-2 = P4 > Ang IV при ivPTZ тест. Нито едно от изследваните съединения не проявява невротоксичност при ротарод теста за оценка на минимално двигателно увреждане. Получените резултати показват, че най-важни за свързването на пептидните лиганди с активната част на IRAP рецептора, са директните Н-връзки, йонните и хидрофобни взаимодействия. От направените изследвания относно връзката структура-биологична активност можем да направим предположението, че замяната на Pro в позиция 2 с конформационно запречени аминокиселини, както и въвеждането на адамантановия остатък откъм N-края в молекулата на хеморфин-4 определят множество целеви системи, които могат да провокират антиконвулсивен ефект при новосинтезираните съединения.

423. Borislav Assenov, Daniela Pechlivanova, Elena Dzhambazova, Petia Peneva, **Petar Todorov**. Antinociceptive Effects of VV-Hemorphin-5 Peptide Analogues Containing Aminophosphonate Moiety in Mouse Formalin Model of Pain. *Protein & Peptide Letters*, Volume 28, Issue 4, Page: [442 - 449], 2021, doi: 10.2174/0929866527666200813200714, (IF=1.89).

Хеморфините са ендогенни пептиди, получени от хемоглобина, принадлежащи към семейството на „атипичните“ опиоидни пептиди с афинитет към опиоидните рецептори и способност да освобождават други ендогенни опиоидни пептиди. Целта на настоящото проучване е синтезиране чрез твърдофазен пептид синтез (Fmoc-стратегия) на пептидни аналози на Валорфина (VV-хеморфин-5), съдържащи аминокиселинов остатък, и *in vivo* изследване за потенциална антиноцицептивната активност. За оценка на острата и възпалителна болкова реакция беше използван формалинов тест. Експериментите са проведени върху възрастни мъжки ICR мишки.

- A24.** S. Georgieva, **P. Todorov**, A. Bezfamilnyi. Development of voltammetric method for trace Cu(II) determination in the presence of Fe(III) in water samples using 5,5'-diphenylimidazolidine-2,4-dione derivative. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 56 (5), 999-1007, **2021**.

С помощта на циклична волтаметрия е описан нов метод за определяне на Cu(II) в присъствието на Fe(III) в проби от чешмяна вода и повърхностни води, използвайки комплексообразователните свойства на 5,5'-дифенилимидазолидин-2,4-дионовото производно. В ацетатен буферен разтвор (0,1 mol/L; pH $5,25 \pm 0,01$), съдържащ минимум десеткратен излишък на имидазолидинового производно, йонът на Cu(II) се определя като сложно съединение след окислително-редукционен процес върху живачен електрод с висяща капка като работен електрод (HMDE) спрямо Ag/AgCl, 3mol/L KCl, използван като еталонен електрод. Постигнати са граници на откриване до 0,0415mg/L Cu(II). Също така беше оценен и пречещият ефект на едни от най-често срещаните в пробите от чешмяна вода и повърхностни води, различни катиони: K(I), Na(I), Mg(II), Ca(II), Al(III), Zn(II), Fe(II), Fe(III) и аниони: Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} .

- A25.** A.Stoilova, G.Mateev, D.Nazarova, L.Nedelchev, E.Stoykova, B.Blagoeva, N.Berberova, S.Georgieva, **P.Todorov**. Polarization holographic gratings in PAZO polymer films doped with particles of biometals. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, Volume 411, 15 April 2021, 113196; <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2021.113196>, (IF=4.291).

В настоящото изследване е представена дифракционната ефективност на поляризационни холографски решетки, записани в тънки слоеве на азополимера PAZO (поли[1-[4-(3-карбокси-4-хидроксифенилазо)бензенсулфонамидо]-1,2-етандиил, натриева сол]) легиран с Cu(II) 3-амино-5,5'-диметилхидантоин (CLP) и Ni(II) 3-амино-5,5'-диметилхидантоин (NLP) в три различни концентрации, а именно 1, 2 и 5 тегл. %. Разгледано е влиянието на състава и концентрацията на добавките върху параметрите на поляризационните холографски решетки, записани в тънките композитни филми. Решетките се записват с He-Cd лазер излъчващ при дължина на вълната 442 nm. Поляризацията на записващите лъчи е ляво и дясно циркулираща, като ъгълът на запис е 20° . Заедно с анизотропната решетка в обема на средата се образува и повърхностен релеф. Кинетиката на ефективността на дифракция се изследва при 635 nm и височината на релефните решетки се определя чрез AFM. За хибридните проби е постигната ефективност на дифракция (η) по-висока от 30%, както и височина на релефа на повърхността 585 nm.

- A26.** **Petar Todorov**, Stela Georgieva, Petia Peneva, Jana Tchekalarova. Spectral and electrochemical solvatochromic investigations of newly synthesized peptide-based chemosensor bearing azobenzene side chain bio photoswitch. *Dyes and Pigments*, Volume 191, July 2021, 109348. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.109348>. (IF=4.889).

Синтезиран, охарактеризиран и изследван е нов аналог на хемофин-4, съдържащ азобензен, като са оценени неговите спектрални, електрохимични и биологични ефекти. Съединението е получено, чрез модифициран твърдофазен пептиден синтез (SPPS) по

Фтос-стратегия. Съединението представлява новосинтезиран и непроучен хемосензор на пептидна основа, съдържащ азобензен в странична верига. В зависимост от полярността на разтворителя, азопептида има различни спектрални и електрохимични свойства в двете транс-/цис-състояния. Установено е, че интензитетът на тяхната флуоресценция, както и волтаметричното поведение зависят както от полярността на разтворителите, така и от вида на изомерите на азопептидното съединение. И двете изомерни форми показваха рН зависимост, тъй като флуоресцентният пик и интензитет се различават значително в кисела и неутрална среда. Електрохимичното поведение преди и след 90 мин. облъчване с UV светлина беше изследвано с помощта на циклична волтаметрия, в режим на триелектродна система с HMDE електрод като работен електрод. Новият биопептид Azo-Tyr-Pro-Trp-Thr-NH₂ е изследван *in vivo* за потенциална антиконвулсивна активност с помощта на 6 Hz тест за психомоторен припадък и максимален електрошоков тест (MES) при ICR мишки. Изомерът на цис-Az-H4 показва по-силна ефективност от транс-Az-H4, както спрямо 6 Hz-индуцираните психомоторни припадъци, така и при тонино-клониноните припадъци при максималния електрошоков гърчов тест със 100% ефективност, наблюдавана в най-ниската доза от 1 µg, приложена интрацеребровентрикуларно у мишки. Ефектът при 1 и 5 µg цис-Az-H4 и 5 µg транс-Az-H4 е сравним с положителната контрола валпроат спрямо 6-Hz тест. Нито един от тестваните изомери не показва невротоксичност при ротарод теста. Резултатите показват, че модифицираният биопептид в N-края на хеморфин-4 с азобензен заслужава по-нататъшно изследване като един обещаващ кандидат-медикамент с антиконвулсивна активност и като хемосензор за определяне на рН.