

**РЕЗЮМЕТА НА НАУЧНИТЕ ПУБЛИКАЦИИ НА
ГЛАС. Д-Р ПЕТЪР ТОДОРОВ ПРЕДСТАВЕНИ ЗА УЧАСТИЕ В КОНКУРС ЗА
„ДОЦЕНТ” - 4.2 ХИМИЧЕСКИ НАУКИ /ОРГАНИЧНА ХИМИЯ/**

- A1.** Emilia D. Naydenova, **Petar T. Todorov**, Margarita N. Topashka-Ancheva, Georgi Ts. Momekov, Tsvetelina Z. Yordanova, Spiro M. Konstantinov and Kolio D. Troev. Novel *N*-(phosphonomethyl)glycine derivatives. Design, characterization and biological activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Volume 43, Issue 6, pp. 1199-1205, **2008**. (IF=2.882)

Синтезирана и охарактеризирана е серия нови α,α -дизаместени циклични производни на *N*-(фосфонометил)глицина. Отчитайки факта, че циклолевцина има антинеопластичен ефект, ние синтезирахме новите α -циклоалканаминометил фосфонови киселини с 5-, 6-, 7-, 8- и 12- членен пръстен с цел изследване и сравняване на биологичната им активност с изходните циклоалканаминокарбоксилни киселини, и установяване влиянието на големината на пръстена в молекулата върху тяхната биологична активност. Новите производни на *N*-(фосфонометил) глицина, получихме по метода на *Kabachnik – Fields*, при който параформалдехида взаимодейства със съответната 1-аминоциклоалканкарбоксилна киселина и диметилхидрогенфосфонат. Новосинтезираните съединения проявяват умерен кластогенен ефект, ниска антипролиферативната активност на костномозъчните клетки и добре изразена цитотоксичност спрямо човешки туморни клетъчни линии. 8- и 12-членните циклични аналози - 1-[(диметоксифосфоно)метиламино]циклооктан карбоксилната киселина и 1-[(диметоксифосфоно)метиламино]циклододекан карбоксилната киселина проявиха най-голяма активност в сравнение с останалите съединения, като беше установено, че те са най-активни спрямо лимфоидната клетъчна линия DONH-2. Последното съединение предизвиква 50 % инхибиране на клетъчната жизненост и се оказа добър причинител на апоптоза в концентрации, вариращи от 20-67 μM . От данните за противотуморната активност на изследваните съединения беше установено, че въвеждането на фосфонометилната група в цикличните аминокиселини води до значително увеличаване на противотуморната активност от една страна, и от друга страна с увеличаване на големината на пръстена в молекулата на съединенията нараства и противотуморната им активност.

- A2.** **Petar Todorov**, Emilia Naydenova, Julita Popova and Kolio Troev. Synthesis and Characterization of Novel (9H-Fluoren-9-ylamino)carbonylaminomethylphosphonic acid. **Heteroatom Chemistry**, 19, 7, 719 - 722, **2008**. (IF=1.155)

Новата α -аминофосфонова киселина беше получена при взаимодействие на (9H-флуорен-9-ил)карбамид с параформалдехид и фосфорен трихлорид. За целта, първо беше необходимо получаването на спиро-(флуорен-9,4'-имидазолидин)-2',5'-дион, по метода на *Bucherer-Bergs*. Опитите ни да получим 9-амино-9-флуоренкарбоксилна киселина се оказаха неуспешни. Ние изолирахме в чист вид и с високи добиви съединението (9H-флуорен-9-ил)карбамид. (9H-флуорен-9-ил)карбамида беше получен от спиро-(флуорен-9,4'-имидазолидин)-2',5'-дион чрез алкална хидролиза с $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Опитите ни да получим новата α -аминофосфонова киселина по класическата реакция на *Kabachnik–Fields*, с параформалдехид и диметилхидрогенфосфонат, в присъствието

на триетиламин в среда от метанол, се оказаха неуспешни. Ние получихме новата (9H-флуорен-9-иламино)карбониламинометилфосфонова киселина като модифицирахме методиката на *Engelmann* и *Pikl*. Структурата на новосинтезираните съединения беше доказана с помощта на IR, ^1H , ^{13}C и ^{31}P ЯМР спектроскопия.

- A3. Petar T. Todorov, Rosica N. Petrova, Emilia D. Naydenova and Boris L. Shivachev. Structure, conformation and hydrogen bonding of two amino-cycloalkanespiro-5-hydantoins. Central European Journal of Chemistry, Volume 7, Number 1, pp. 14-19, 2009. (IF=1.065)**

Структурните характеристики на хидантоините и спирохидантоините представляват интерес при разработването на нови лекарства за по-доброто разбиране на връзката структура-активност. В тази статия съобщаваме, че беше определена кристалната структура на 3-амино-циклохептанспиро-4'-имидазолидин-2',5'-дион (I) или 3-амино-1,3-дiazаспиро[4.6]ундекан-2,4-дион и 3-амино-циклооктанспиро-4'-имидазолидин-2',5'-дион (II) или 3-амино-1,3-дiazаспиро[4.7]додекан-2,4-дион. И в двете съединения молекулите са съединени чрез N-H.....O и N-H.....N взаимодействия, дължащи се на полярната хидантоинова група, образувайки слоеста структура. Проведени са *DFT* пресмятания с цел да се определи геометрията на молекулите. Наблюдаваните молекулни структури са сравнени с такива оптимизирани чрез теория на функционала на електронната плътност (*Density Functional Theory methods*).

- A4. Petar Todorov, Emilia Naydenova and Kolio Troev. Synthesis of Novel Aminophosphonic Acids with Hydantoin Structure. Heteroatom Chemistry, 20, 2, 87 – 90, 2009. (IF=0.877)**

Новите α -аминофосфонови киселини с хидантоинова структура бяха получени по два различни метода. Новата [(5,5-диметил-2,4-диоксоимидазолидин-1,3-диил)диметил]дифосфонова киселина беше получена при взаимодействие на 5,5-диметилхидантоин с формалдехид и фосфорен трихлорид по метода на *Engelmann* и *Pikl*. Чрез реакцията на *Kabachnik-Fields* са синтезирани две нови [(4,4-диметил-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил)амино]метилфосфонова и (5,5-диметил-2,4-диоксо-3-[(фосфонометил)амино]имидазолидин-1-илметил)фосфонова киселини. Структурата на новосинтезираните съединения беше доказана с помощта на IR, ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ и ^{31}P ЯМР спектроскопия.

- A5. Emilia D. Naydenova, Petar T. Todorov and Kolio D. Troev. Synthesis and Characterization of Novel Cycloalkanespiro-5-hydantoin Phosphonic Acids. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 185 (7), 1315 - 1320, 2010. (IF=0.621)**

Известно е, че хидантоините заместени при C-5 са важни лекарствени средства. В литературата няма данни за получаването на аминоксфофонови киселини съдържащи хидантоинова структура. Синтезирана и охарактеризирана е серия нови циклоалканспиро-5-хидантоин фосфонови киселини. Чрез модифицирана от нас методика беше получена сместа от [(2,4-диоксо-1,3-дiazаспиро-алкан-3-ил) метил] фосфонови киселини и [(2,4-диоксо-1,3-дiazаспиро-алкан-1,3-диил)диметил]ди

фосфонови киселини, при взаимодействие на съответните циклоалканспиро-5-хидантоини с формалдехид и фосфорен трихлорид в съотношение 1:2:2. Структурата на новосинтезираните съединения беше потвърдена чрез IR, ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ и ^{31}P ЯМР спектрални данни.

- A6.** Emilia D. Naydenova, **Petar T. Todorov** and Kolio D. Troev. *Resent Synthesis of Aminophosphonic Acids as Potential Biological Importance, Review. Amino Acids, Volume 38, Number 1, pp. 23-30, 2010. (IF=4.106)*

Аминофосфоновите киселини заемат важно място сред съединенията използвани в медицината, като значително внимание върху техния синтез е фокусиран в синтетичната органична и медицинска химия. Аминофосфоновите киселини представляват изключителен интерес, поради тяхната разнообразна биологична активност. Те се използват като противоракови, антивирусни, антибактериални и хербицидни средства. Редица фосфонопептиди притежават антибактериална активност и са ефективни инхибитори на различни видове тумори, левкемия, мултиплетна склероза и някои автоимунни заболявания. Въпреки че фосфоновата и карбоксилната групи значително се различават по отношение на форма, размер и киселинност, α -аминофосфоновите киселини се разглеждат като структурни аналози на съответните природните α -аминокиселини, които са “градивните единици” на пептиди и протеини. Настоящата обзорна статия обобщава последните тенденции в синтеза, охарактеризирането и биологичната активност на α -аминофосфоновите киселина и техните *N*-аналози. Дискутирани са както синтеза, така и приложението им в медицинската химия като потенциални биологично активни вещества. В допълнение, накратко е разгледано и охарактеризирането на производни на *N*-(фосфонометил) глицина.

- A7.** **Petar Todorov**, Emilia Naydenova, Rosica Petrova, and Boris Shivachev. *Monoammonium (R,S)-(5-methyl-2-oxo-1,3-oxazolidin-3-yl)methylphosphonic acid. Acta Crystallographica section E, Volume E66, Part 1, pages o6, 2010. (IF=0.413)*

Беше определена кристалната структура на амониевата сол на *(R,S)*-(5-метил-2-оксо-1,3-оксазолидин-3-ил)метилфосфоновата киселина. Съединението кристализира в триклинната пространствена група P_1 с параметри на елементарната клетка: $a = 6.471(3)$, $b = 8.801(3)$, $c = 9.427(4)$ Å и $\beta = 70.658(18)^\circ$, $Z=2$. Дължините на връзките и ъглите в молекулата са сравними с наблюдаваните в други аналогични съединения. Структурните геометрични особености на 2-оксазолидиновия пръстен, също са сравними с описаните в литературата, като той е в конформация „клик”, най-отдалечен от равнината на пръстена е $C5$ атома. Кристалната структура показва тридименсионална мрежа от $\text{O-H} \cdots \text{O}$ и $\text{NH} \cdots \text{O}$ водородни връзки, които допълнително я стабилизират.

- A8.** **Petar Todorov** and Emilia Naydenova. *Synthesis and Characterization of Novel Dipeptides Mimetics with Hydantoin Moiety. Comptes Rendus Chimie, Volume 11, pp. 1424-1428, 2010. (IF=1.60)*

Целта на настоящата работа бе синтез и охарактеризиране на нови хидантоинови производни, като потенциални биологично активни вещества. Описан е синтеза на три нови производни на 5,5-диметилхидантоина, съответно: 2-амино-*N*-(4,4-диметил-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил)ацетамид, 2-амино-*N*-(4,4-диметил-2,5-диоксоимидазолид-

ин-1-ил)-3-фенилпропанамид, и 2-амино-4-метил-N-(4,4-диметил-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил)пентанамид. Новите пептидни миметици бяха получени чрез TBTU/DIEA метода. Като изходно съединение ние използвахме 3-амино-5,5-диметилхидантоина. За синтезирането на защитените дипептидни миметици, използвахме съответните защитени аминокиселини: Boc-Gly-OH, Boc-L-Leu-OH, Z-L-Phe-OH, Z-Gly-OH. В зависимост от вида на защитната група на дипептидите деблокирането извършихме с TFA или H_2/Pd . Новосинтезираните съединения бяха охарактеризирани с IR, МС, 1H , $^{13}C\{^1H\}$ и ^{31}P ЯМР спектрални данни.

A9. Emilia D. Naydenova, **Petar T. Todorov**, Polina I. Mateeva, Rositza N. Zamfirova, Nikola D. Pavlov, Simeon B. Todorov. *Synthesis and biological activity of novel small peptides with aminophosphonates moiety as NOP receptor ligands. Amino Acids, Volume 39, Number 5, pp. 1537-1543, 2010. (IF=4.106)*

Целта на настоящото изследване бе синтез и биологичен скрининг на нови аналози на Ac-RYYRWKNH₂, модифицирани в N-края с 1-[(метоксифосфоно)метил амино]циклоалканкарбоксилни киселини. Четирите новосинтезирани лиганда на ноцицептин/орфанин FQ(N/OFQ) рецептора (NOP) бяха получени чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc стратегия. Всички новосинтезирани пептиди са C-крайни амиди. Поради факта, че ноцицептиновите аналози с C-крайна амидна група притежават по-голяма активност от съответните съединения със свободна C-крайна карбоксилна група. Установено е, че пептидите с C-крайна амидна група са по-устойчиви спрямо ензимно разграждане и притежават по-подходяща конформация за свързване с NOP-рецептора. Тези съединения бяха изследвани за агонистична активност *in vitro* върху изолирани, електрически стимулирани гладко-мускулни препарати от *vas deferens* на плъхове порода Wistar. Данните от нашите изследвания показаха, че заместването на Arg в първа позиция с аминоксифосфонатен остатък води до намаляване на афинитета на лигандите към NOP-рецептора. Освен това увеличаването на пръстена (с 5-8 въглеродни атоми) допълнително намалява както активността така и селективността към NOP-рецептора. Когато Arg¹ е запазен в хексапептидната молекула афинитета и селективността към NOP рецептора се запазва (съединение 6). Въз основа на направените изследвания допускаме, че гладкомускулното инхибиране при останалите съединения (със заместен Arg¹) се дължи на взаимодействия на тези пептидни аналози с класическите опиоидни рецептори (δ , μ , κ), а не с ноцицептиновия рецептор.

A10. **Petar T. Todorov**, Ogniana Aneva, Emilia D. Naydenova. *Synthesis of Phosphorus-Containing Dipeptide Mimetics via Kabachnik-Fields Reaction. Heteroatom Chemistry, 22, 5, 669 – 672, 2011. (IF=1.044)*

Като част от нашите изследвания бяха синтезирани и охарактеризирани серия от нови хидантоин-фосфоновы киселини и техни аналози. Основната цел на настоящата работа бе синтеза на нови фосфор-съдържащи дипептидни миметици като потенциални биологично активни вещества и е продължение на наши предишни изследвания. Описан е синтеза на три нови фосфоната, както следва: диметил(2-(4,4-диметил-2,5-диоксоимидазолидин-1-иламино)-2-оксоетиламино)метилфосфонат, диметил(1-(4,4-диметил-2,5-диоксоимидазолидин-1-иламино)-4-метил-1-оксопентан-2-иламино)метилфосфонат, и диметил(1-(4,4-диметил-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил

амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-иламино)метилфосфонат. Те бяха синтезирани по реакцията на *Kabachnik-Fields*. Новосинтезираните съединения охарактеризирахме чрез елементарен анализ, ИЧ и ЯМР (^1H , ^{13}C и ^{31}P) спектрални данни.

A11. Petar Todorov, Monique Calmes, Boris L. Shivachev, Rosica N. Petrova. (R)-methyl {[2-(2-carboxybicyclo[2.2.2]octan-1-yl)ammonio]methyl}phosphonate 0.25 dichloromethane- solvate. *Acta Crystallographica section E*, Volume E67, Part 8, pages o2152-o2153, 2011. (IF=0.413)

Беше определена кристалната структура на оптично-активната форма на (R)-метил{[(2-карбоксибицикло[2.2.2]октан-1-ил)амино]метил}фосфоната. Установено беше, че молекулата съществува под формата на цвитерйонна структура. В асиметричната единица има две кристалографски независими молекули приемащи същата абсолютна конфигурация и малко различаващи се по техните геометрични параметри. Във всяка молекула, имино и карбоксилната групи са свързани посредством вътрешно-молекулна N—H – –O водородна връзка. Между-молекулните водородни връзки O—H – –O и N—H – –O, предизвикват образуване на слоеве, успоредни на *ab* равнината.

A12. Petar T. Todorov, Nikola D. Pavlov, Monique Calmes, Boris L. Shivachev, Emilia D. Naydenova, Jean Martinez, Rosica N. Petrova. Synthesis of new racemic and optically active N-phosphonylalkyl bicyclic β -amino acids via Kabachnik-Fields reaction as potential biologically active compounds. *Heteroatom Chemistry*, DOI 10.1002/hc.20759, 2011 (IF=1.044)

Аминофосфоновите киселини са важен клас биологично активни съединения. Техния синтез е от значителен интерес както за синтетичната органична химия, така и за медицинската химия. В резултат на извършената синтетична работа, за първи път са синтезирани и охарактеризирани оптично активни аминоксидати съдържащи бицикло[2.2.2] октанова структура. Новите рацемични и оптично активни пространствено запречени N-фосфоноалкилбициклични β -амино киселини бяха получени, чрез реакцията на *Kabachnik-Fields*, при взаимодействие на (RS) или (R)-1-аминобицикло[2.2.2]октан-2-карбоксилни киселини с параформалдехид/бензалдехид и диметил-N-фосфонат. Установено беше, че при условията на реакцията на *Kabachnik-Fields*, тя протича без епимеризация. Беше определена абсолютната конфигурация на всички новосинтезирани съединения. Структурата на получените съединения беше потвърдена и с помощта на ЯМР (^1H , ^{13}C и ^{31}P), LC/MS и рентгено-структурен анализ.

A13. Petar T. Todorov, Polina I. Mateeva, Rositza N. Zamfirova, Nikola D. Pavlov, Emilia D. Naydenova. Synthesis and biological activity of new series of N-modified analogues of the N/OFQ(1-13)NH₂ with aminophosphonate moiety *Amino Acids*, 2011 - DOI: 10.1007/s00726-011-1177-7 (IF=4.106)

Синтезирана и изследвана за биологична активност е нова серия N-модифицирани аналози на N/OFQ(1-13)NH₂ с аминоксидатен остатък. Тези пептиди бяха получени чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc стратегия. Аналозите на N/OFQ(1-13)NH₂ бяха изследвани за агонистична активност *in vitro* върху изолирани,

електрически стимулирани гладко-мускулни препарати от *vas deferens* на плъхове порода Wistar. Данните от нашите изследвания показаха, че селективността на пептидите, съдържащи 1-[(метоксифосфоно)метиламино]циклоалканкарбоксилни киселини от към N-края на Phe не се променя - те остават селективни агонисти за NOP рецептора. Производното с най-големия пръстен (NOC-6) показва ефикасност, подобна на тази на N/OFQ(1-13)NH₂, но в 10-пъти по-висока концентрация. За първи път беше изследвана агонистичната активност на новосинтезираните N-модифицирани аналози на N/OFQ(1-13)NH₂ с аминоксифонатен остатък.

A14. Petar T. Todorov, Diana W. Wesselinova, Nikola D. Pavlov, Jean Martinez, Monique Calmes, Emilia D. Naydenova. Cytotoxic activity of new racemic and optically active Nphosphonoalkyl bicyclic β -amino acids against human malignant cell lines. *Amino Acids*, 2012, DOI : 10.1007/s00726-012-1217-y (IF=4.106).

α -Аминоксифоновите киселини са структурни аналози на аминоксифонилните киселини и притежават разнообразна биологична активност като: противотуморна, противовирусна, антибактериална и др. Установеният антипролиферативен ефект съчетан с ниска токсичност върху бозайници ги прави значими за разработването на нови противотуморни средства.

Цитотоксичността на новосинтезираните рацемични и оптично активни пространствено запречени N-ксифоноалкилбициклични β -аминоксифонилни, беше определена върху човешки туморни клетъчни линии. Всички изследвани съединения показват концентрационно-зависима цитотоксична активност спрямо HT-29 (човешки колоректален карцином), MDA-MB-231 (рак на гърдата), HepG2 (човешки чернодробни карцином), HeLa (рак на маточната шийка), и Lер3 (нормални човешки диплоидни клетки като контрола) клетъчни линии, особено в концентрации 0,5 mg/ml - 24h. Изследваните съединения показаха различна активност, в зависимост от вида на клетъчната линия и концентрацията на съединенията. Съединения **1**, **2** и **3** показаха изразен цитотоксичен ефект спрямо MDA-MB-231 клетки, спрямо HepG2 и HT-29 клетки – съединение **3**, а спрямо HeLa за съединения **1**, **3**, **4**. Най-чувствителни спрямо всички изследвани съединения бяха HeLa клетките. За първи път е изследвана антитуморната активност на новосинтезираните аминоксифонати съдържащи бицикло[2.2.2] октанова структура.

A15. Petar Todorov, Rosica Petrova, Emilia Naydenova, and Boris Shivachev. Synthesis and X-ray crystal structure of spiro(fluorene-9,4'-imidazolidine)-2',5'-dione and (9H-fluorene-9-yl)urea, *Journal of Chemical Crystallography*, 2012, DOI 10.1007/s10870-012-0280-2 (IF=0.666)

Структурните характеристики на спирохидантоините и неговите производни представляват интерес при разработването на нови лекарства за по-доброто разбиране на връзката структура-активност. Тази работа е част от наши изследвания върху синтез, охарактеризиране и биологична активност на този интересен и перспективен клас съединения. В тази статия съобщаваме, че бяха определени кристалните структури на (9H-флуорен-9-ил)карбамида и спиро(флуорен-9,4'-имидазолидин)-2',5'-диона. Проведени бяха и DFT пресмятания с цел да се определи геометрията на молекулата. Наблюдаваните молекулни структури и анализа от инфрачервената спектроскопия на

съединенията бяха сравнени с изчисленията от *DFT* анализа (*Density Functional Theory methods*).

- Б1.** G. Momekov, **P. Todorov**, E. Naydenova, A. Kostovski and K. Troev. Cytotoxic activity of new α -aminophosphonic acids against human malignant cell lines. *Pharmacia*, 54 (3-4), pp 9-11, 2007.

Изследвана беше цитотоксичността на 2-оксо-1,3-оксазолидин-3-ил-метилфосфонови киселини, (2-хидроксиалкил)аминометилфосфонови киселини и 2-(N-фосфонометил)-2-амино-2-метилпропанова киселина върху човешки туморни клетъчни линии. Всички тествани съединения показват концентрационно-зависима цитотоксична активност спрямо левкемични клетки, установена след 72 h непрекъснато експониране, определена е и стойността на IC_{50} . За да се изясни механизма на наблюдаваната цитотоксичност, ние проведохме количествено определяне на способността на новосинтезираните съединения **1-5**, към предизвикване на олигонуклеозомални–ДНК фрагментации – който са ключов критерий за апоптозата, която беше определена, чрез ‘Cell Death Detection’ ELISA-тест.

- Б2.** Margarita N. Topashka-Ancheva, **Petar T. Todorov**, Tsvetelina Z. Gerasimova, Emilia D. Naydenova. GENOTOXIC AND ANTIPROLIFERATIVE EFFECTS OF RECENT SYNTHESIS OF HYDANTOIN-PHOSPHONIC DERIVATIVES. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 46, 2, 191-196, 2011.

Аминофосфоновите киселини притежаващи хидантоинова част проявяват разнообразна биологична активност. Дискутирани са някои приложения на тези съединения в съвсем различни области, като селското стопанство и човешкото здраве. Тази статия се отнася до изследване на генотоксичния и антипролиферативен ефект на скоро синтезирани аминоксфосфонови киселини с хидантоинова част. За първи път бяха изследвани тези ефекти на новосинтезираните съединения: [(5,5-диметил-2,4-диоксоимидазолидин-1,3-диил)диметил]дифосфонова киселина, диметил[(5,5-диметил-2,4-диоксоимидазолидин-3-ил)аминометил]фосфонат и диметил[(3-[(диметоксифосфорил)метил]амино-5,5-диметил-2,4-диоксоимидазолидин-1-ил)метил]фосфонат. Те проявяват умерен кластогенен и висок антипролиферативен ефект на *ICR* костномозъчни клетки на мишки.

- Б3.** Elena Dzhambazova, Adriana Bocheva, **Petar T. Todorov**, Nikola D. Pavlov, and Emilia D. Naydenova. Nitric oxideergic system involvement in analgesic effects of nociceptin receptor ligands with aminophosphonates moiety. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*, 64 (11), 1617-1624, 2011. (IF=0.219)

Изучено е участието на нитрикоксайдергичната система в ефектите на аналозите на Arg-Тур-Тур-Arg-Тур-Lys-NH₂ показали статистически достоверен аналгетичен ефект спрямо ноцицептина чрез прекурсор и инхибитор на азотноокисната синтаза (NOS). Ефектите на новосинтезирани N-модифицирани хексапептидни аналози върху ноцицепцията са изследвани в мъжки плъхове *Wistar* посредством два теста, въвличащи механо- и терморепторите (*PP*- paw-pressure, *HP*- hot-plate); Хексапептидите **2** (Ac-

Arg-Tyr-Tyr-Arg-Trp-Lys-NH₂), **3**, **4** (с включени аминокиселинни остатъци с 5- и 7-членен пръстен съответно) и **6** (със запазен Arg в първа позиция) статистически достоверно понижават противоболковия ефект на L-NAME за целия период на изследване при PP и HP тестове ($p < 0.01$), което говори за вероятно антиопиоидно действие. В ефектите участва и нитрикоксайергичната система, тъй като аналозите потиснаха и аналгетичният ефект на L-arginine. В опитите L-NAME (10 mg/kg, i.p.) и L-arginine (1 mg/kg, i.p.) бяха въвеждани 20 мин. преди инжектиране на изследваните вещества. Като обобщение можем да кажем, че аналгетичните ефекти на новосинтезираните хексапептидни аналози **3**, **4** и **6** са по-силни в сравнение с тези на аналог **2**. В тях участват опиоидергичната, нитрикоксайергичната и ноцицептиновата невротрансмитерни системи. Вероятно наред с опиоидното действие те притежават и антиопиоидно.

Б4. Emilia Naydenova and Petar Todorov. Nociceptin/Orphanin (N/OFQ) analogues: Chemistry and Biology. Review. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 46, 4, 333-348, 2011.

Напредъкът в изследването на биогенезата на различни ендogenous опиоидни пептиди, на анатомичното разпределение и характеристиките на сложните рецептори, с които те взаимодействат, дава нови възможности за изясняване на ролята им в болковата перцепция. Опиатните аналгетици са широко използвани като болкоуспокояващи средства. Изследването на ендogenous опиоиди е с цел откриване на аналгетик с по-малко странични ефекти. В последните години голям интерес представляват изследванията структура-активност на ноцицептин - NOP-рецептор. Те са разпространени в централната и периферната нервна система: в различни участъци на мозъчната кора, хипоталамуса, симпатиковите неврони, мозъчния ствол, гръбначния мозък. Специфичното разположение на NOP-рецептора и ноцицептина в мозъка показва, че те участват в модулирането на множество процеси, контролирани от централната нервна система. Ноцицептинът оказва влияние върху усещанията за болка, страх, върху апетита, двигателната активност, обучението и паметта. В периферната нервна система ноцицептинът повлиява функциите на сърдечно-съдовата, храносмилателната, отделителната и дихателната системи.

Ноцицептинът, известен още и като орфанин FQ (N/OFQ), е неuropeпид, структурно подобен на опиоидните пептиди, който не взаимодейства с класическите опиоидни рецептори. Хептадекапептидът N/OFQ (Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln) селективно активира свой собствен рецептор NOP, наречен по-рано ORL₁ или OP₄, който е нов член на групата на опиоидните рецептори. Отстраняването на отделни аминокиселинни остатъци в N-края, както при [desPhe¹]N/OFQ, води до силно намаляване на афинитета, докато премахването на аминокиселинни остатъци от C-края на ноцицептина не води до значителни промени. Изследванията "структура-активност" показват, че молекулата на N/OFQ може да се разглежда като разделена на две части, а именно: N-краен тетрапептид Phe-Gly-Gly-Phe, наречен "message", който е важен за активирането на ноцицептиновия рецептор и C-краен "adress", важен за свързването с рецептора.

Ето защо синтезирането на нови ноцицептинови аналози с някои структурни промени представлява интерес както за химиците, така и за медиците. Подобни изследвания ще допринесат за изясняване особеностите на системата ноцицептин/ноцицептинов рецептор. Настоящата обзорна статия обобщава последните тенденции в синтеза, охарактеризирането и биологичната активност на нови ноцицептинови аналози.

Дискутирани са както синтеза, така и приложението им в медицинската химия като потенциални болкоуспокояващи средства. В допълнение, накратко са разгледани и аналози на Ac-RYYRWKNH₂, модифицирани в N-края с аминоксифонатен остатък.

- B1.** *Petar T. Todorov, Emilia D. Naydenova, Nikola Pavlov, Kolio D. Troev. Synthesis of novel hydantoin-phosphonic acids and dipeptides consist hydantoin structure with potential biological activity. **Peptides** 2008. Edited by Hilikka Lankinen, Proceeding of 30th European Peptide Symposium, 52-53, 2008.*

Направен е сравнителен преглед на структурните особености на аминоксифоновите киселини с хидантоинова структура като потенциални биологично активни вещества. Хидантоините са важни синтетични съединения, които често се използват като прекурсори на α-аминокселина. C-5 заместените хидантоини както и аминоксифоновите киселини също са важни лекарствени препарати. Благодарение на тяхната антидепресантна, анти-конвулсивна, антиаритмична, както и антивирусна и противотуморна активност, те са намерили множество приложения. В наши изследвания установихме, че въвеждането на аминоксифонна група в хидантоиновия пръстен на спирохидантоините оказва влияние върху тяхната биологична активност. Като се има предвид този факт, ние описахме синтеза на нови хидантоин-фосфонове киселини и дипептиди с хидантоинова структура с акцент върху връзката структурата - биологична активност. Синтезирани са нови хидантоин-фосфонове киселини и дипептиди включващи хидантоинова структура в молекулата си. Новите дипептиди са синтезирани чрез пептиден синтез в разтвор при взаимодействие на Boc- или Z-аминокселини (Gly, Phe, Tyr, Ser) с 3-аминохидантоини. Като кондензиращ реагент е използван TBUT/DIEA. Циклоалканспиро-5-хидантоините с 5-, 6-, 7- и 8- членен пръстен са получени от съответните циклични кетони по реакцията на *Bucherer-Lieb* и са превърнати в 3-амино производни чрез взаимодействие с NH₂NH₂·H₂O по модифициран от нас метод. Защитните групи на пептидите са отстранени чрез каталитично хидрогениране в присъствие на Pd/C за бензилоксикарбонилните (Z-) и трифлороцетна киселина (TFA) за бутилоксикарбонилните (Boc-) групи. Изходните хидантоини са използвани и за получаването на нови α-аминоксифонове киселини. Всички новосинтезирани съединения са охарактеризирани с ИЧ-, ¹H-, ¹³C- и ³¹P- ЯМР спектроскопия и ES-MS маспектрометрия.

- B2.** *Emilia D. Naydenova, Petar T. Todorov, Nikola D. Pavlov, Elena B. Dzhambazova, and Adriana I. Bocheva. N/OFQ(1-13)NH₂ Analogues with Aminophosphonate Moiety: Synthesis and Analgesic Activity. **Peptides** 2010. Proceedings of the 31st European Peptide Symposium Michal Lebl, Morten Meldal, Knud J. Jensen, Thomas Hoeg-Jensen (Editors) European Peptide Society, 486-487, 2010.*

Ноцицептинът/орфанин FQ (N/OFQ), е невропептид (хептадекапептид: Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln) селективно активира свой собствен рецептор, наречен още ORL₁ или NOP и е нов член на групата на опиоидните рецептори. Системата ноцицептин-NOP участва в модулирането на множество процеси. Ноцицептинът оказва влияние върху усещанията за болка, страх, върху апетита, двигателната активност, обучението и паметта. N/OFQ(1-13)NH₂ представлява минималната пептидна последователност, която запазва активността на природния

пептид ноцицептин. Изследванията върху връзката структура –биологична активност показват, че N- и C-крайните модификации в N/OFQ водят до създаването на високо активни лиганди за NOP рецептора. Целейки разработването на лиганди за NOP рецептора, които да имат силно изразена аналгетична активност са синтезирани и тествани за ноцицептивен ефект, серия от N-модифицирани с аминоксифосфонатен остатък аналози на N/OFQ(1-13)NH₂. Новите аналози са синтезирани чрез твърдофазен пептиден синтез, Fmoc-стратегия. В първа позиция са включени 1-[(метоксифосфоно) метиламино]циклоалканкарбоксилни киселини. Аналгетичната активност е изследвана с два ноцицептивни теста *paw-pressure (PP)* и *hot-plate (HP)*. В PP теста всички нови аналози значително намаляват болковия праг сравнени с N/OFQ(1-13)NH₂ с изключение на аналог **5** в 20-та минута. Аналози **3** и **6** в 10-та минута и аналог **5** в 20-та минута показаха статистически значим и краткотраен аналгетичен ефект в сравнение с контролата.

B3. *Adriana I. Bocheva, Elena B. Dzhambazova, Petar T. Todorov, Nikola D. Pavlov, Emilia D. Naydenova. Effects of naloxone and JTC-801 on analgesic activity of novel N/OFQ(1-13)NH₂ analogues. Proceedings of the 22nd American Peptide Symposium Michal Lebl (Editor) American Peptide Society, 340-341, 2011.*

Синтезирани са N-модифицирани аналози на N/OFQ(1-13)NH₂ чрез твърдофазен пептиден синтез, Fmoc (9-флуоренилметоксикарбонил)-стратегия. Биологичната активност на новите пептидни аналози с аминоксифосфонатен остатък бе определена по време на остра болка при мъжки плъхове порода *Wistar* чрез *paw-pressure (PP)* тест. За да се изясни въвличането на ноцицептиновата и опиоидергичната системи в антиноцицептивните ефекти на аналози **3**, **5** и **6** (показали активност при предишни наши изследвания) са използвани JTC-801, N-(4-амино-2-метилхинолин-6-ил)-2-(4етилфеноксид-метил)бензамид монохидрохлорид, нов активен NOP рецептор антагонист, както и налоксон (Nal), като опиоиден антагонист, който блокира класическите опиоидни рецептори. JTC-801 приложен 10 минути преди инжектиране на новите аналози значително намалява болковия праг за целия изследван период. Този ефект е много по-силно изразен при N/OFQ(1-13)NH₂ (около 70%). Налоксона приложен 20 минути преди изследваните пептиди значително намалява техните аналгетични ефекти до хипералгезия. Получените резултати показват, че в аналгетичните ефекти на новите аналози **3**, **5** и **6**, с включени 1-[(метоксифосфоно)метиламино]циклоалканкарбоксилна киселина в позиция 1, са въвличени и ноцицептиновата и опиоидергичната системи с което се показва опиоиден и не-опиоиден механизъм в механизма на тяхното действие.

B4. *Emilia D. Naydenova, Nikola D. Pavlov, Petar T. Todorov, Elena B. Dzhambazova, Adriana I. Bocheva. Analgesic effects of novel hexapeptide analogues as nociceptin receptor ligands. Proceedings of the 22nd American Peptide Symposium Michal Lebl (Editor) American Peptide Society, 356-357, 2011.*

Хексапептидите с обща формула Ac-RYYR/KW/IR/K-NH₂ са идентифицирани чрез комбинаториални библиотеки, като най-малката последователност с висок афинитет и селективност към NOP рецептора и със значителен аналгетичен ефект. Синтезирани са нови N-модифицирани хексапептидни аналози с цел по-висока аналгетична активност и по-добра устойчивост на ензимно разграждане. Изследвани са

ефектите на налоксон (Nal) и JTC-801 (NOP рецептор антагонист) в аналгетичната активност на новите аналози. Получените резултати показаха, че включването на 1-[(метоксифосфоно)метиламино]циклоалканкарбоксилна киселина в позиция 1 от молекулата на H-Arg-Tyr-Tyr-Arg-Trp-Lys-NH₂ увеличава аналгетичния ефект в аналози **3** и **4** и, че увеличаването на пръстена (8 атома) в съединение **5** намалява този ефект. Аналгетичният ефект е по-изразен в съединение **6**, в което Arg¹ е запазен. Нашите резултати показаха, че JTC-801 инхибира аналгетичния ефект при **3**, **4** и **6** в PP тест, докато Nal предизвиква хипералгезия (изключение прави **3**). Това предполага въвличането на ноцицептин и опиоид невромедиаторните системи в механизма на тяхното действие по време на остра болка.