



Финансирано от  
Европейския съюз  
NextGenerationEU



**BiOrgaMST**  
Биоактивни органични и неорганични  
авангардни материали и чисти технологии

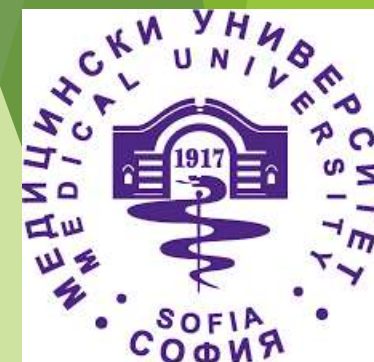


МИНИСТЕРСТВО  
НА ОБРАЗОВАНИЕТО  
И НАУКАТА

# ХИМИКОТЕХНОЛОГИЧЕН И МЕТАЛУРГИЧЕН УНИВЕРСИТЕТ



БЪЛГАРСКА  
АКАДЕМИЯ  
на НАУКИТЕ  
1869



Проект **BiOrgaMST** (Биоактивни органични и неорганични авангардни материали и чисти технологии) по процедура „Създаване на мрежа от изследователски висши училища в България“

Научноизследователска група

3.1.3. Биологичноактивни молекули - дизайн, синтез, екстракция и изследване

WP 1. Пептидни миметици и биоконюгати с потенциално приложение в медицината.

1.1. Дизайн и синтез на нови аналози и биоконюгати на SST и BIM-23052 чрез включване на неприродни аминокиселини в структурата им с цел подобряване на тяхната фармакодинамика, търсене на синергичен ефект между пептидният фрагмент и допълнителния фармакофор.



първична структура на пептида



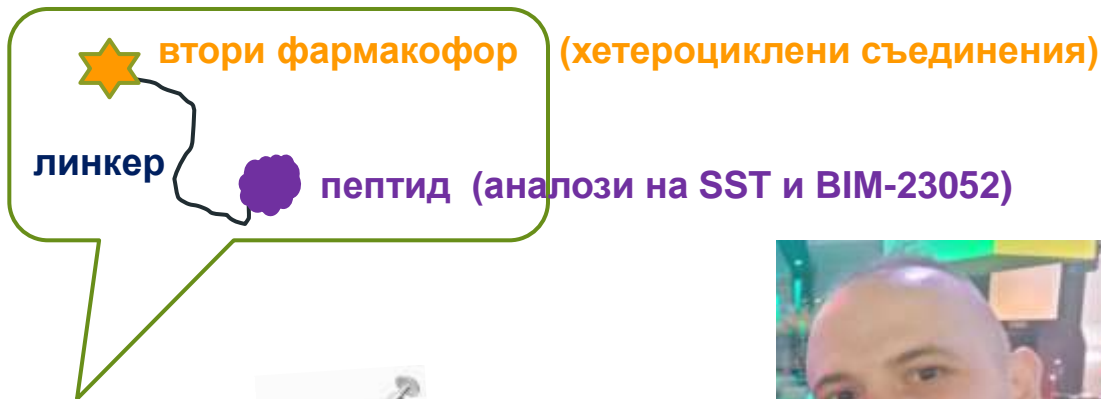
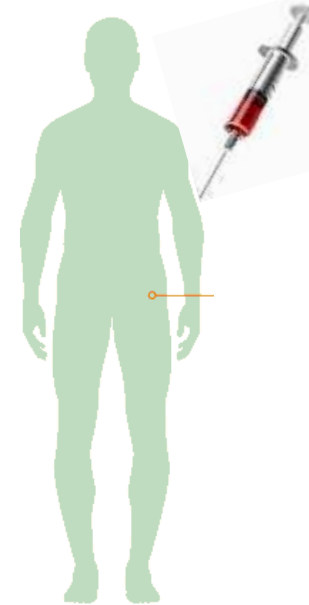
микроорганизми



Ракови клетки



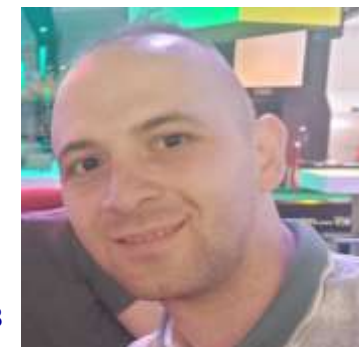
таргетна терапия



Биоконюгат



хим. А. Шопов



проф. Д. Даналев



проф. Е. Найденова



докт. Д. Димитрова

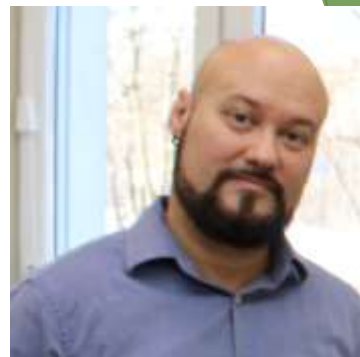
1.2. Дизайн, синтез и охарактеризиране на антимикробни пептиди с доказани допълнителни антитуморни свойства чрез въвеждане на неприродни аминокиселини и втори фармакофор в структурата им с цел подобряване на фармакодинамиката на получените молекули



# WP 1. Пептидни миметици и биоконюгати с потенциално **възпаление и болка**

приложение в медицината.

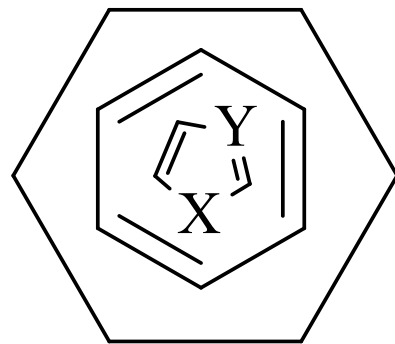
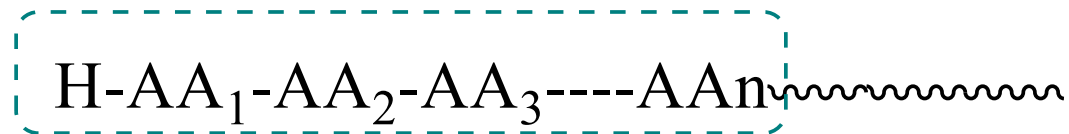
1.3. Дизайн, синтез и охарактеризиране на пептиди с противовъзпалителна и опиоидна активност.



проф. Д. Даналев

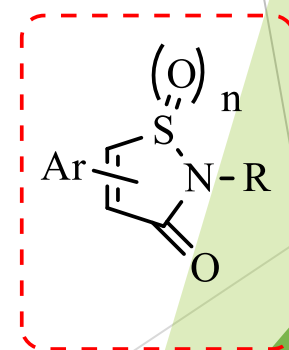
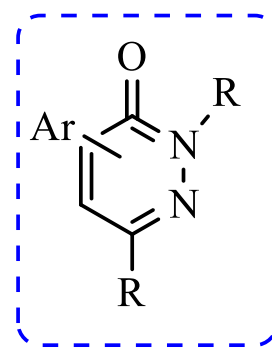
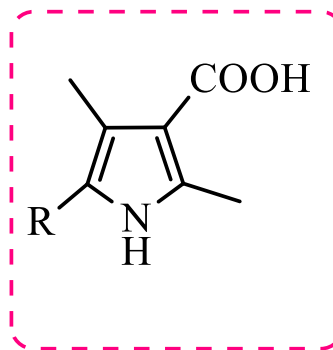


д-р S. Gérard



2.3. Изследване на стабилността на получените съединения в експериментална и реална биологична среда

Създаване на моделни системи, имитиращи отделни части от човешкия организъм рН 1.2 (стомах), рН 7 (кръвна плазма) и рН 9 (тънки черва), максимално доближаващи се до реалната биологична среда с цел изследване на фармакодинамиката на новосинтезираните молекули



докт. Б. Борисова



гл. ас. С. Петрин



WP 1. Пептидни миметици и биоконюгати с потенциално приложение в медицината.

1.4. Синтез и охарактеризиране на метални комплекси с пептиден лиганд, съдържащ биоактивни метали

Синтез на серия от метални комплекси с органичен пептиден лиганд

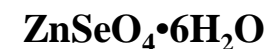
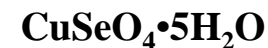
Охарактеризиране на получените комплекси чрез съвременни методи

Изследване на получените комплекси в различно стехиометричното съотношение и на тяхното комплексообразуване в съответния разтворител чрез съвременни методи:

- Елементен анализ посредством ICP (атомно емисионна спектрофотометрия с индуктивно свързана плазма) и ААА (Атомно-абсорбционният анализ);
- Спектроскопски методи: Инфрачервена (ИЧ) и Раман спектроскопия, UV-VIS, Масспектрометрия;
- Рентгеноструктурен анализ и/или прахова рентгенова дифракция;
- Сканиращ електронен микроскоп (SEM)

Изучаване разтворимостта на соли, съдържащи метални йони в различни разтворители

Синтез на:



доц. В. Караджова

хим. А. Шопов

WP 1. Пептидни миметици и биоконюгати с потенциално приложение в медицината.

1.5. Биологично изследване на молекули с противоракови, антимикробни, противовъзпалителни свойства и опоидна активност



## Тестване на получените нови молекули за антимикробна активност



Дисково-дифузионен метод за определяне на антимикробна активност

Референтни сертифицирани щамове *Escherichia coli* NBIMCC 8785

*Bacillus subtilis* NBIMCC 3562

*Candida albicans* NBIMCC 74



ас. Й. Стоянова



гл.ас. В. Немска



ДОКТ.  
Д. Димитрова



гл.ас. Н. Лазарова



гл.ас. Ц. Фотева



проф. Н. Георгиева



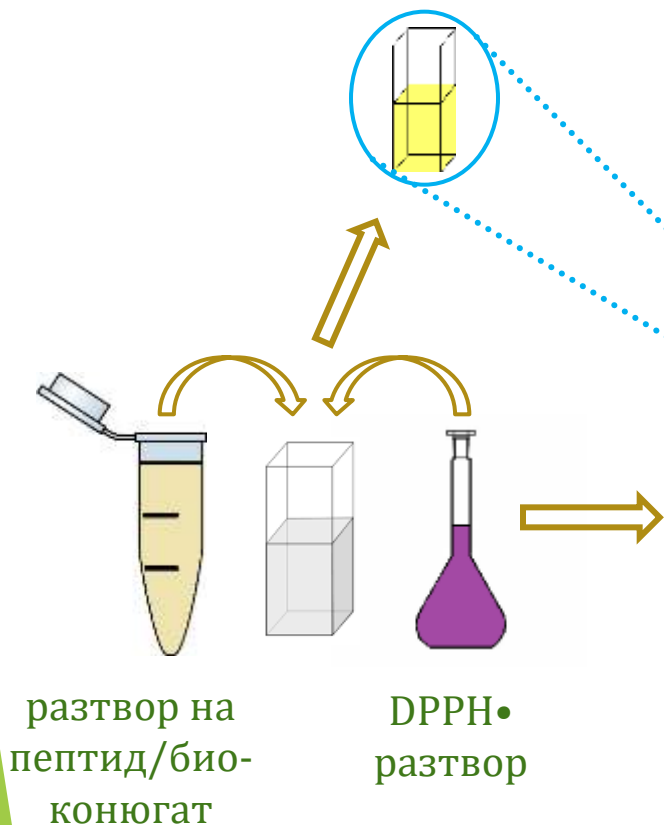
WP 1. Пептидни миметици и биоконюгати с потенциално приложение в медицината.

1.5. Биологично изследване на молекули с противоракови, антимикробни, противовъзпалителни свойства и опоидна активност

1.6. Изследване на антиоксидантен и ензимно-инхибиращ потенциал на пептидни миметици и биоконюгати

### АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНОСТ - DPPH• метод

пептид/биоконюгат + DPPH• разтвор

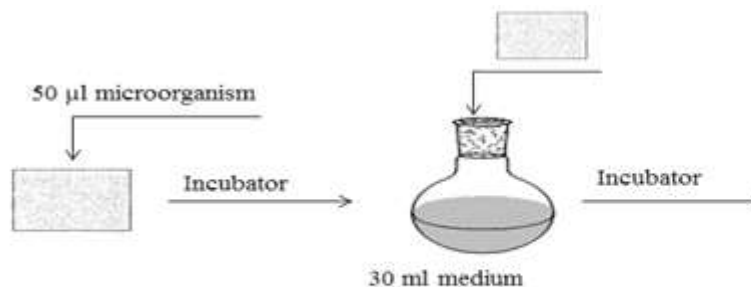


UV/Vis - Спектрофотометър



## Тестване на получените нови молекули за антимикробна активност

Метод на микроразреждане в бульон (Microdilution in Broth) провеждан с помощта на Microplate Reader

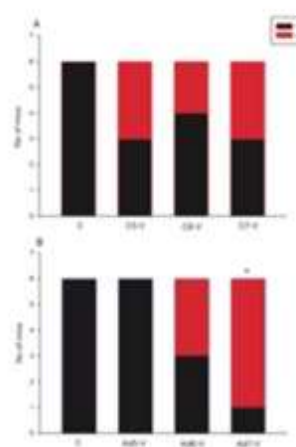
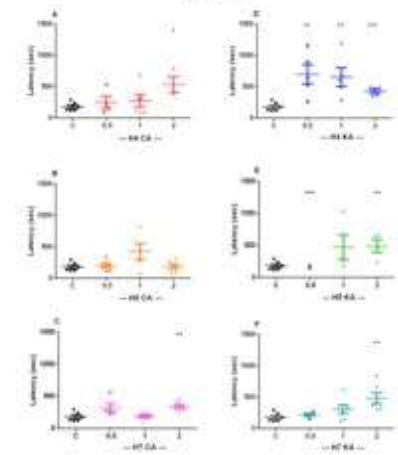
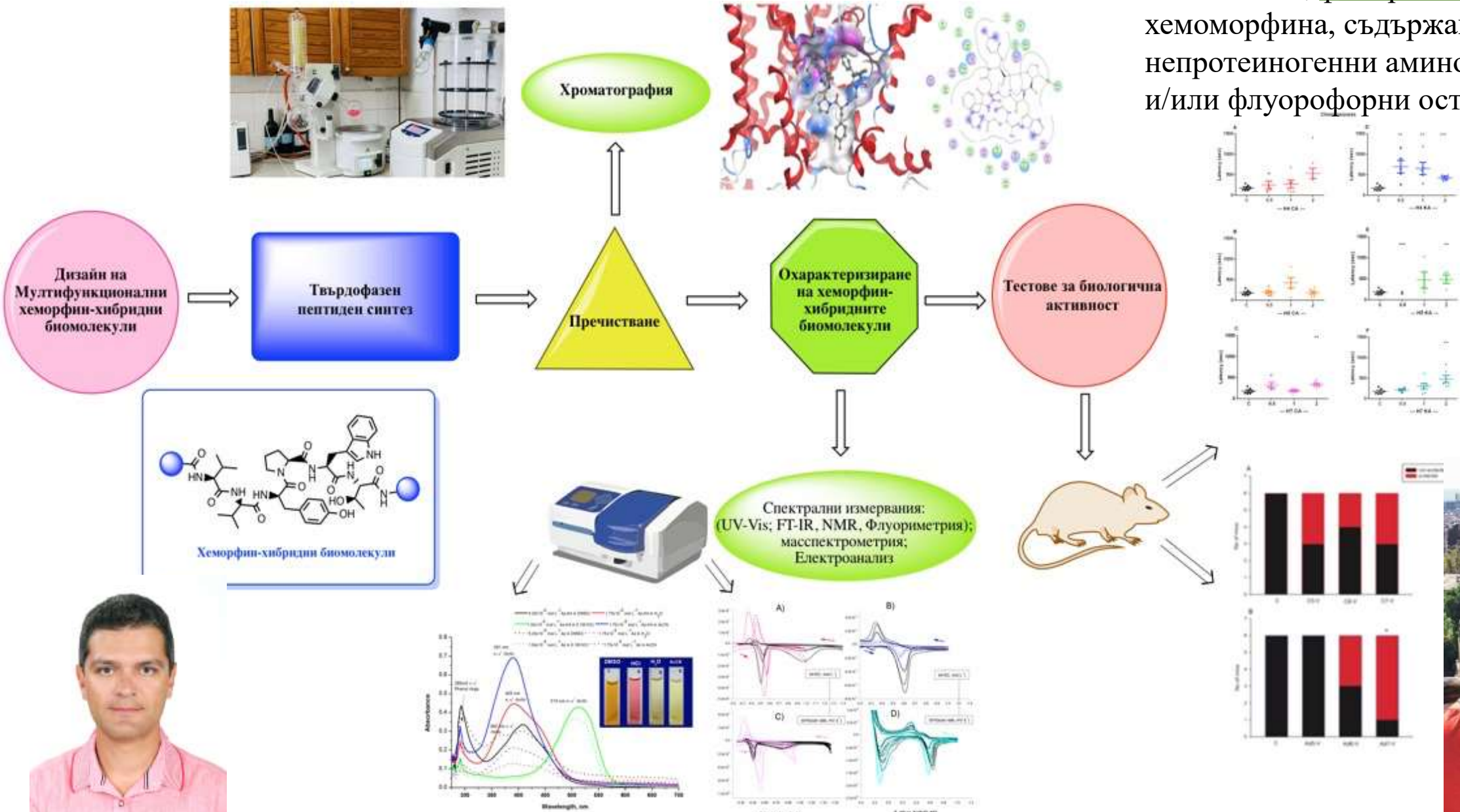


$$\% \text{ неутрализиран } DPPH \bullet = \frac{(A_{\text{празна проба}} - A_{\text{проба}})}{A_{\text{празна проба}}} \cdot 100 \quad (1)$$
$$\% \text{ нереагирал } DPPH \bullet = 100 - \% \text{ неутрализиран } DPPH \bullet \quad (2)$$



# WP 2. Мултифункционални хеморфин-хибридни биомолекули

2.1. Синтез и охарактеризиране на нови N-модифицирани аналози на хеморфина, съдържащи непротеиногенни аминокиселини и/или флуорофорни остатъци

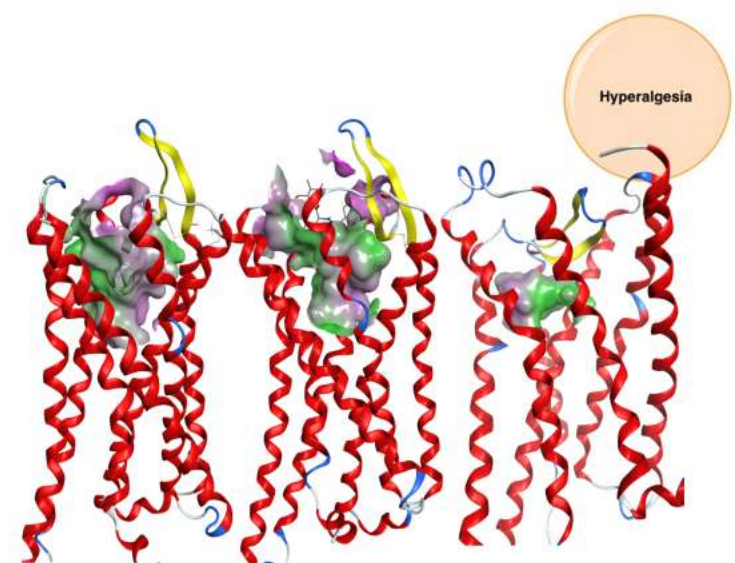
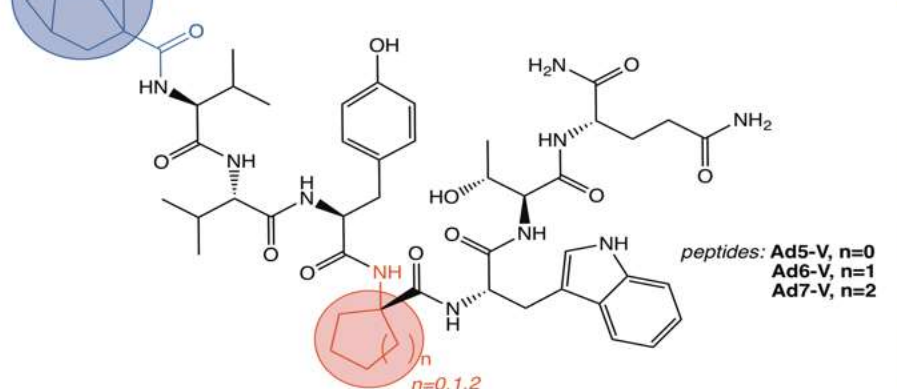
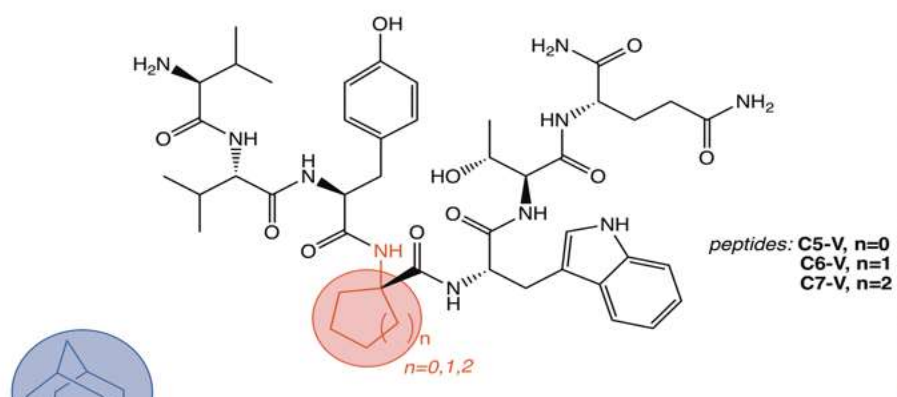


проф. П. Тодоров



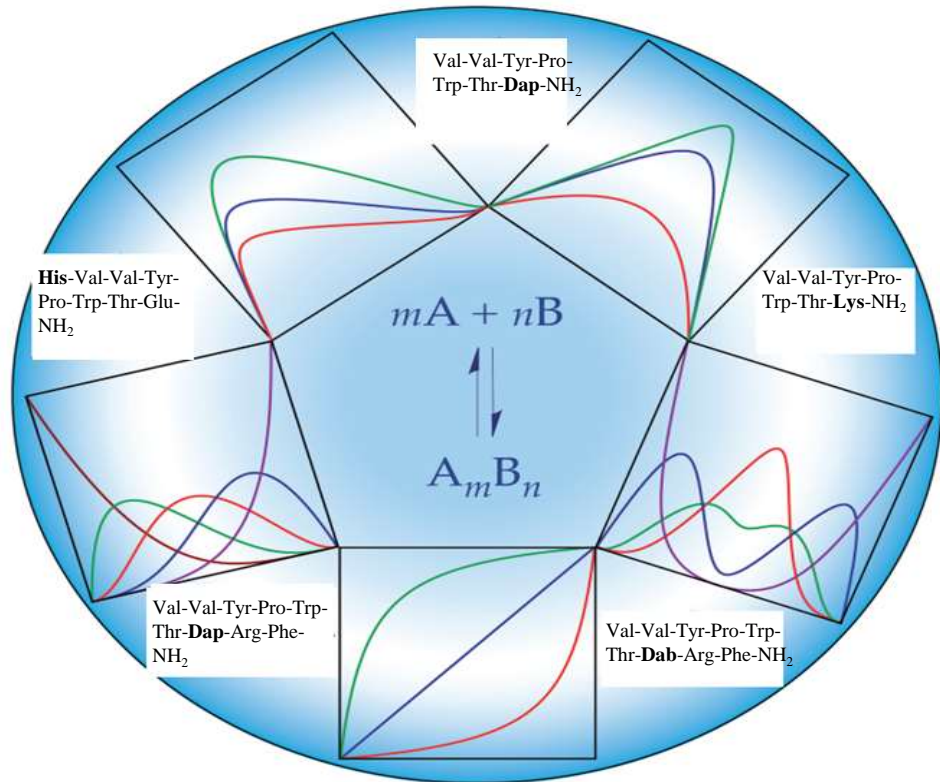
гл. ас. П. Пенева





Химични структури на новосинтезирани аналози на VV-хеморфин-5, съдържащи пространствено запречени аминокиселинни остатъци





## WP2. Мултифункционални хеморфин-хибридни биомолекули

### Заложени дейности:

2.2. Изследване на редокс поведението на новосинтезираните молекули в различни електролитни среди (pH 1.2-12.8) чрез прилагане на волтаметрични техники

2.3. Изследване на стабилността на получените съединения в експериментална и реална биологична среда

2.5. Изследване на антиоксидантната активност на новосинтезирани аналози на хеморфина чрез циклична волтаперометрия



### Допълнителни дейности:

Изследване на комплексообразователни процеси в моделни разтвори между хеморфинови лиганди и йони на преходни метали.

### Методи и техники на анализ

**Методи за определяне на състав на комплексно съединение (чрез електрохимични и спектрални техники)**

- Метод на Остромисленски-Джоб (метод на изомоларните серии)
- Метод на моларното съотношение
- Метод на наклона (Garvey-Manning slope ratio method)
- Метод за изменение на баланса (balance method)

**Определяне на стабилност на комплексни съединения (изчисляване на стабилитетна константа  $\beta_K$ ): чрез електрохимични и спектрални техники)**

- Приложение на метода на изомоларните серии за определяне на стабилитетна константа
- Метод на Адамович
- Метод на разреждането
- Метод на Клотц

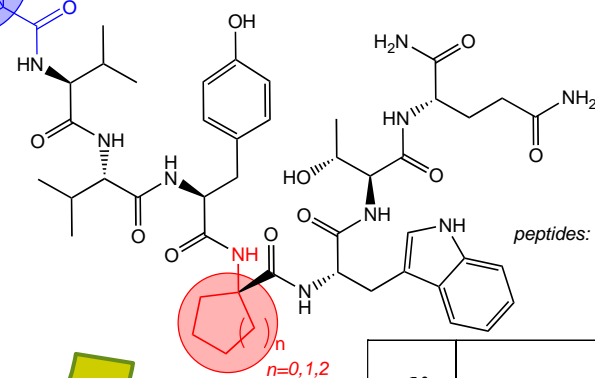
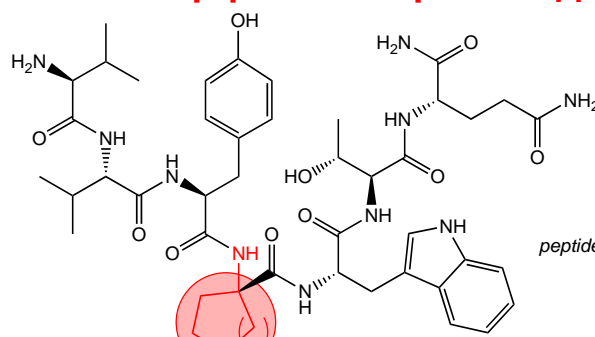
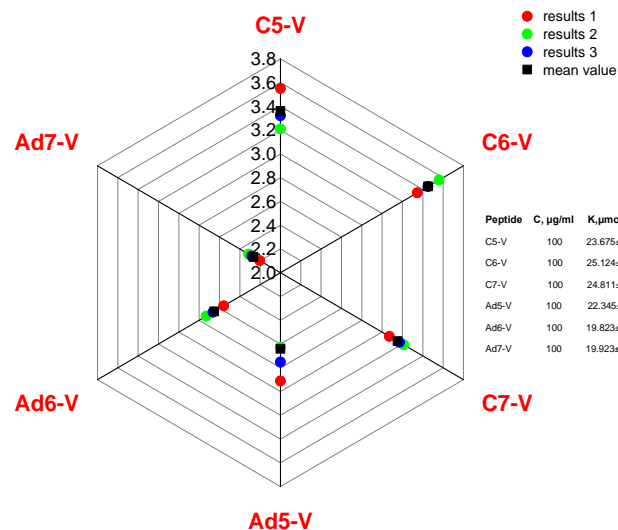


доц. С. Георгиева

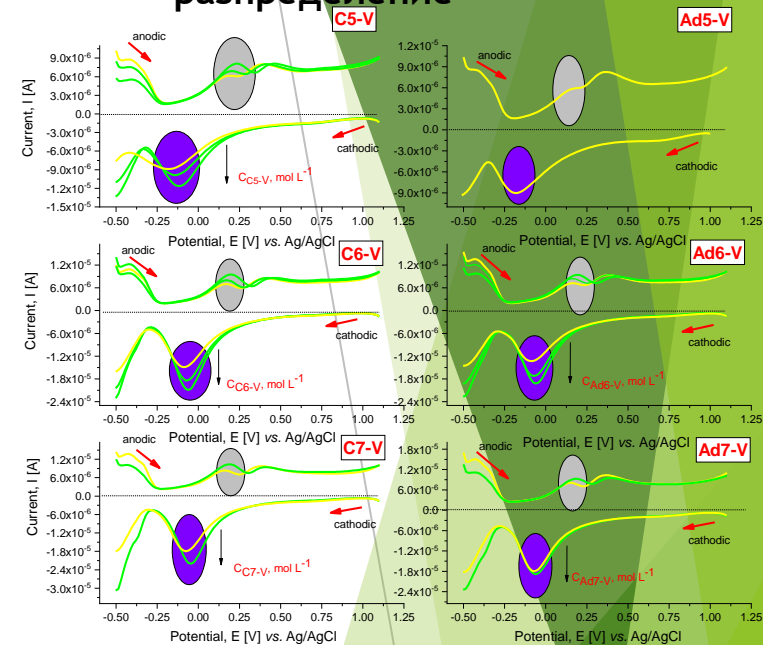


## Получени резултати за охарактеризиране на хеморфинови производни

### Електрохимично определяне на антиоксидантна активност



### Електрохимично охарактеризиране и определяне на киселинно основни константи и коефициент на разпределение



| №     | Peptide   | <sup>a</sup> [α] <sub>546</sub> <sup>20</sup> (°) | Molecular formula   | <sup>b</sup> t <sub>R</sub> , min | <sup>c</sup> [MH] <sup>+</sup> calculated | <sup>c</sup> [MH] <sup>+</sup> observed | pK <sub>a</sub> | logP   | T, °C   |
|-------|---|---|---|-----------------------------------|---|---|-----------------|--------|---------|
| C5-V  | Val-Val-Tyr-Ac5c-Trp-Thr-Gln-NH <sub>2</sub>      | -8°   | C <sub>45</sub> H <sub>64</sub> N <sub>10</sub> O <sub>10</sub> | 17.8                              | 904.48                                    | 905.05                                  | 9.26            | 0.230  | 108-109 |
| C6-V  | Val-Val-Tyr-Ac6c-Trp-Thr-Gln-NH <sub>2</sub>      | -8°   | C <sub>46</sub> H <sub>66</sub> N <sub>10</sub> O <sub>10</sub> | 19.72                             | 918.50                                    | 919.08                                  | 8.22            | -0.270 | 104-105 |
| C7-V  | Val-Val-Tyr-Ac7c-Trp-Thr-Gln-NH <sub>2</sub>      | -8°   | C <sub>47</sub> H <sub>68</sub> N <sub>10</sub> O <sub>10</sub> | 21.76                             | 932.51                                    | 933.10                                  | 7.96            | -0.474 | 106-107 |
| Ad5-V | Adam-Val-Val-Tyr-Ac5c-Trp-Thr-Gln-NH <sub>2</sub> | -12°  | C <sub>56</sub> H <sub>78</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub> | 39.91                             | 1066.59                                   | 1067.30                                 | 8.36            | -1.64  | 112-113 |
| Ad6-V | Adam-Val-Val-Tyr-Ac6c-Trp-Thr-Gln-NH <sub>2</sub> | -14°  | C <sub>57</sub> H <sub>80</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub> | 41.27                             | 1080.60                                   | 1081.33                                 | 8.16            | -1.43  | 106-107 |
| Ad7-V | Adam-Val-Val-Tyr-Ac7c-Trp-Thr-Gln-NH <sub>2</sub> | -14°  | C <sub>58</sub> H <sub>82</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub> | 42.1                              | 1094.62                                   | 1095.35                                 | 8.18            | -1.68  | 104-105 |

Подготвена и изпратена за разглеждане статия: P. Todorov, S. Georgieva, J. Tchekalarova, P. Peneva, P. Mateeva, B. Assenov, E. Dzhambazova, D. Pechlivanova, Synthesis, characterization and evaluation of anti-hyperalgesia, anticonvulsant and antioxidant activity of novel VV-hemorphin-5 analogs containing steric restricted amino acids moiety, submitted

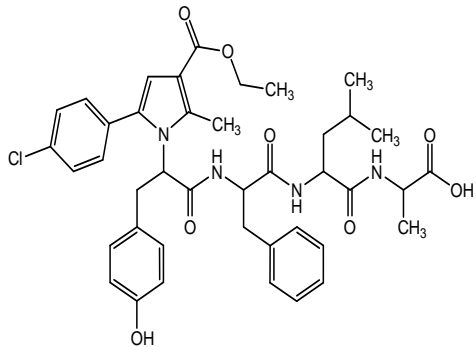
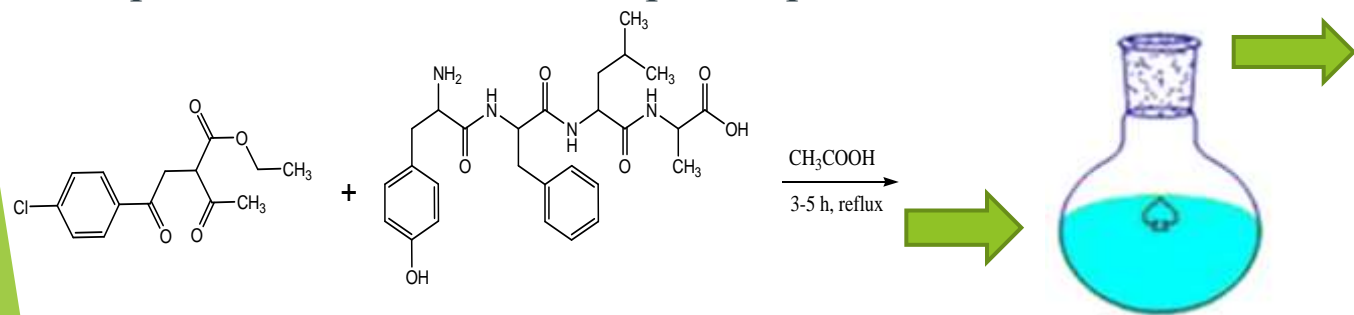




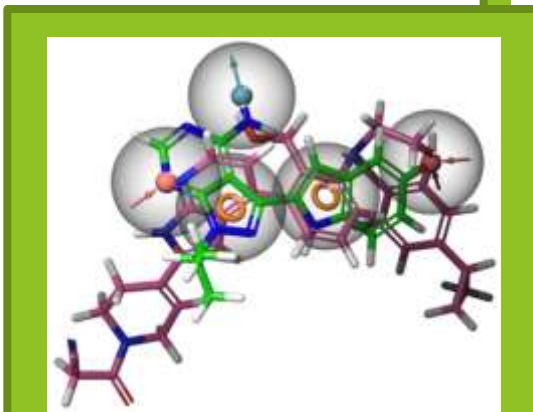
## WP 3. Хетероциклични съединения и повърхностно активни вещества на биологична основа

3.1. Синтез и охарактеризиране на нови съединения, съдържащи в своята структура бензимидазолов и/или пирилов хетероцикъл с потенциална противовъзпалителна и аналгетична активност.

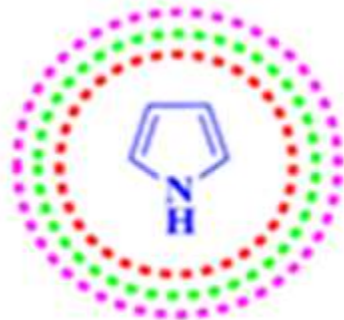
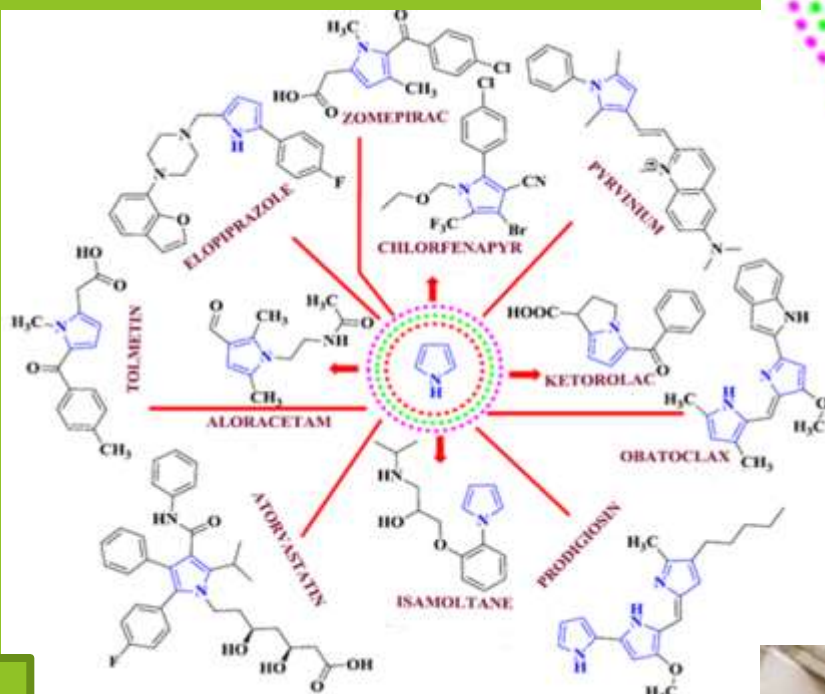
3.2. Синтез и охарактеризиране на нови хибридни молекули, съдържащи в структурата си пептиден фрагмент и пирилов хетероцикъл с потенциална противоракова активност.



моделна реакция на Паал-Кнор

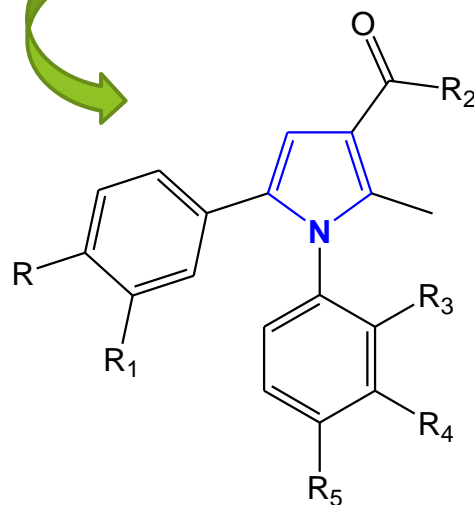


## Пириловият хетероцикъл като активно структурно звено в лекарствени молекули

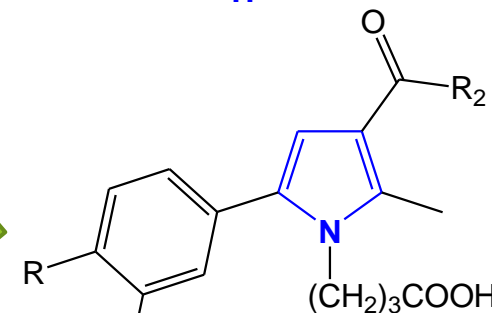
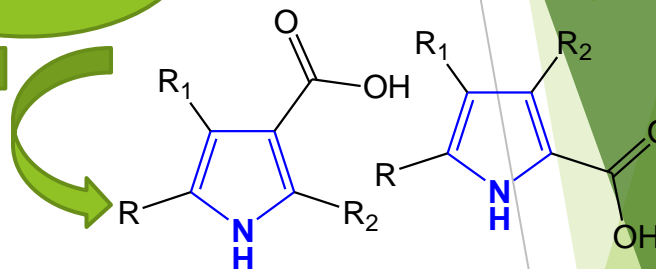
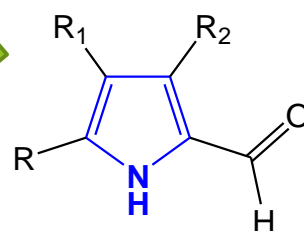
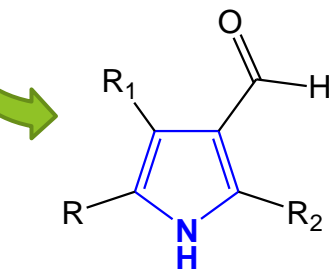




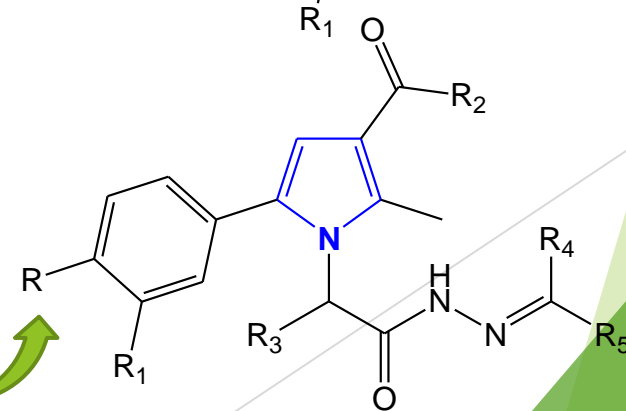
Трициклични  
пиролови  
производни



Прекурсори за получаване на  
хибридни молекули,  
съдържащи пептиден или  
бензимидазолов фрагмент



N-пироллилкарбоксилни  
хидразони







Финансирано от  
Европейския съюз  
NextGenerationEU



**BiOrgaMCT**  
Биоактивни органични и неорганични  
авангардни материали и чисти технологии



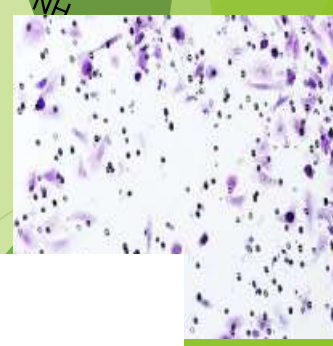
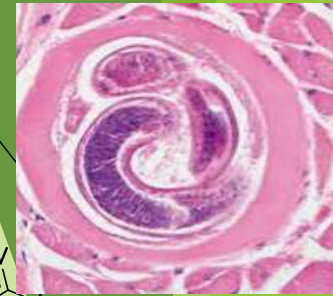
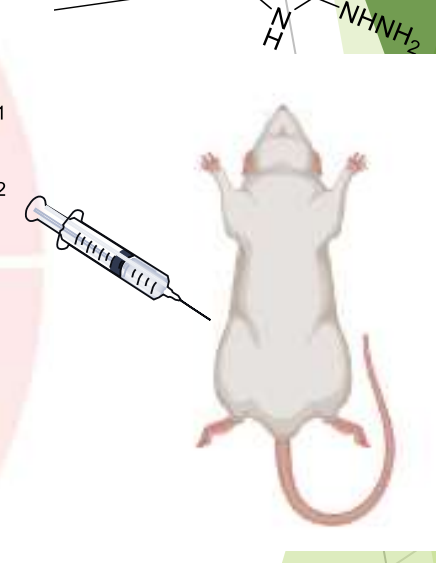
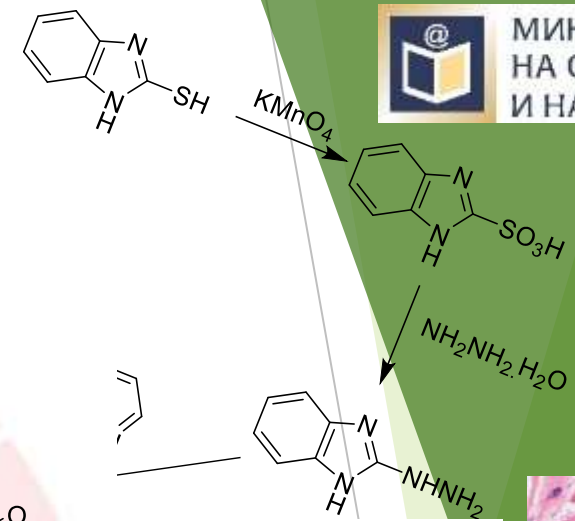
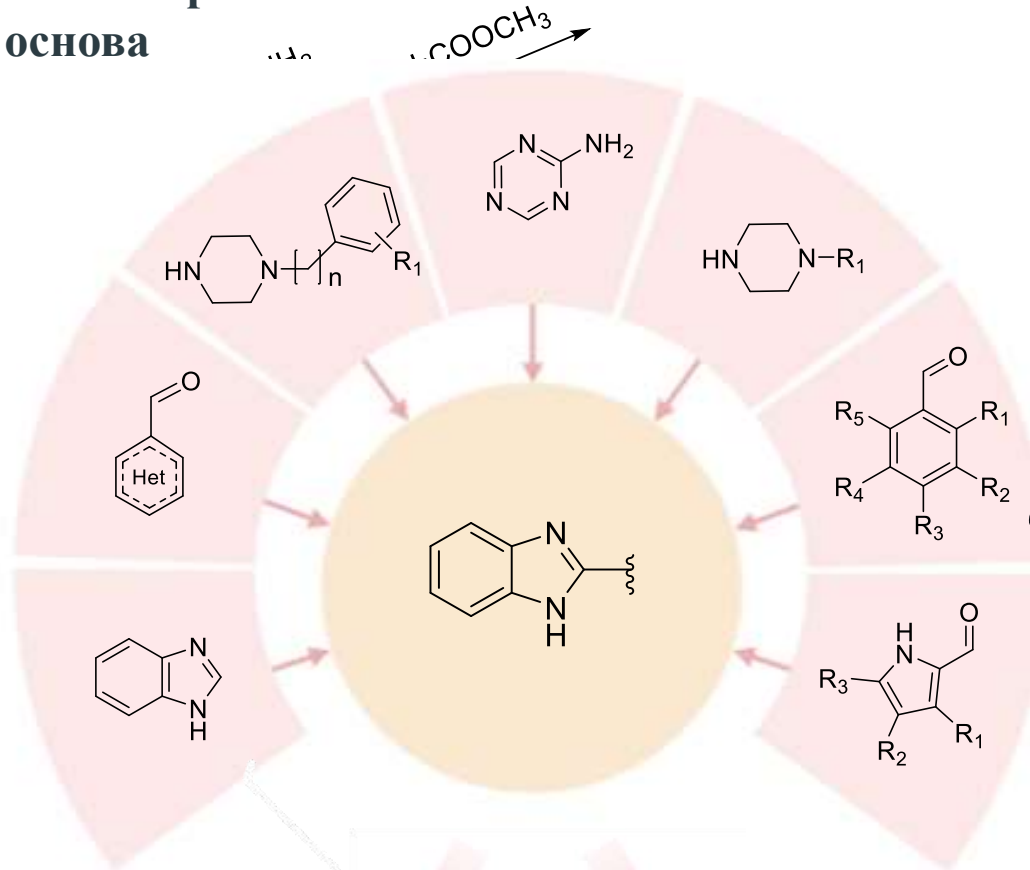
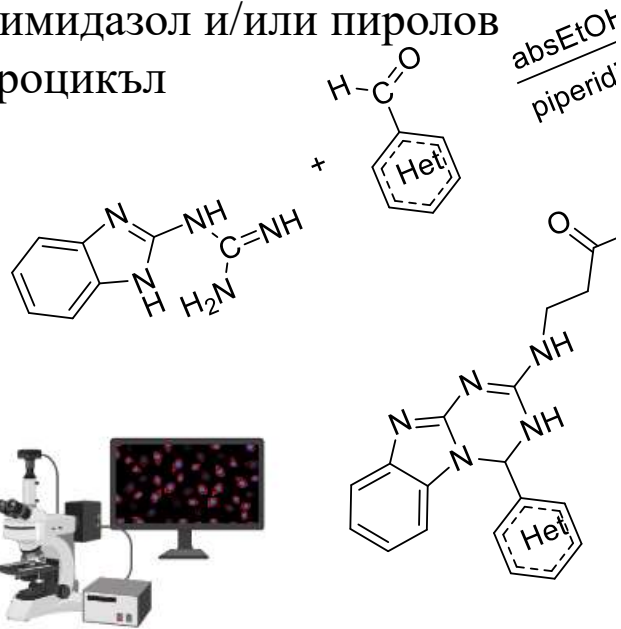
МИНИСТЕРСТВО  
НА ОБРАЗОВАНИЕТО  
И НАУКАТА

## WP 3. Хетероциклични съединения и повърхностно

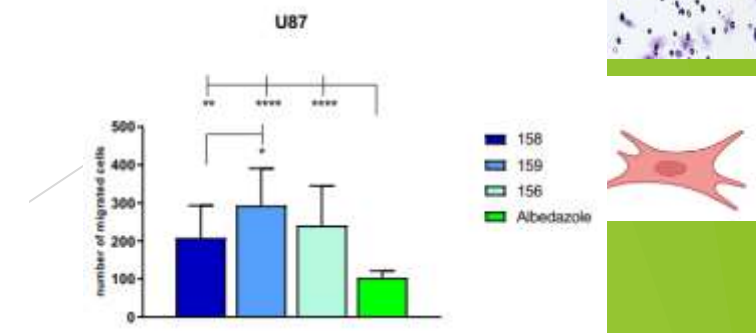
активни вещества на биологична основа

### 3.1. Синтез и охарактеризиране

на нови съединения,  
съдържащи в своята структура  
бензимидазол и/или пиолов  
хетероцикъл



3.4. Фармакологични изследвания  
за потенциална антиоксидантна,  
противоракова или антихелминтна  
активност на новосинтезирани  
хетероцикли и хибридни молекули



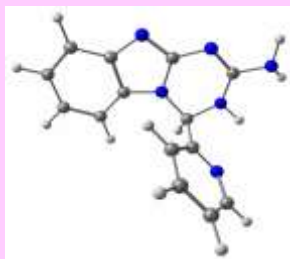


1

## Постигнати резултати

Осъществен е синтез, изолиране и пречистване на серия от **4-арил/хетерил-[1,3,5]триазино-[1,2-а]бензимидазоли**.

Теоретично изследване на молекулната структура чрез квантово-химични пресмятания



доц. К. Аничина-Заркова

2

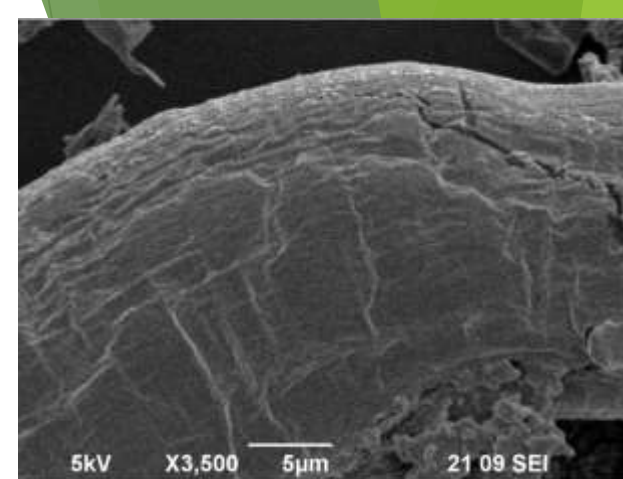
Изследвания за антипаразитна активност

*In vitro* срещу *Trichinella spiralis*

64 % ларвоциден ефект при 50  $\mu\text{g/mL}$  след 24 ч;  
11% ларвоциден ефект - albendazole



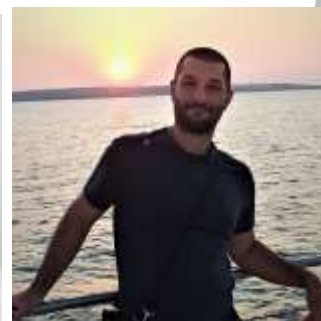
3



Ларва *T. spiralis*, третирана с едно от съединения, наблюдавана на сканиращ електронен микроскоп

4

Предстоят *In vitro* изследвания за антинепластична активност



докт. Н. Лумов







## WP 3. Хетероциклични съединения и повърхностно активни вещества на биологична основа



доц. Д. Цекова-Начева



докт. В. Кондова



проф. J. Miravet



### Области на приложение на биосърфактантите

3.3. Синтез и изследване на свойствата на нови аминокиселинни биоповърхностно активни вещества като добавки и носители на биологично активни агенти, както и ДНК вектори

**Биосърфактанти, производни на аминокиселини**

1. Дизайн и синтез на нови мономерни биосърфактанти, съдържащи в молекулата си аминокиселини и остатъци на висши мастни киселини с допълнителни функционални групи в молекулата, които да придават и допълнителни свойства.

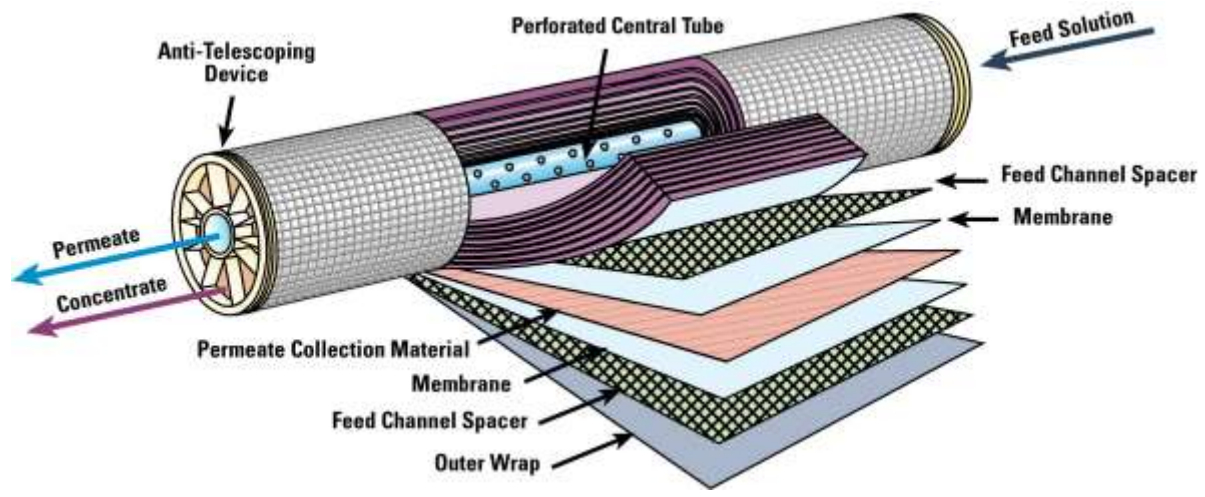
2. Дизайн и синтез на димерни (близначни/ gemini) биосърфактанти и и охарактеризирането им чрез определяне на размерите на мицели и/или агрегати в разтвори, съдържащи в молекулата си аминокиселини и остатъци на киселини, с допълнителни функционални групи в молекулата.

3. Охарактеризиране на получените в т 1 и т 2 сърфактанти с критични концентрации на мицелообразуване (или агрегиране) и чрез определяне на размерите на мицели и/или агрегати в разтвори.

4. Определяне на тяхната токсичност и цитотоксичност



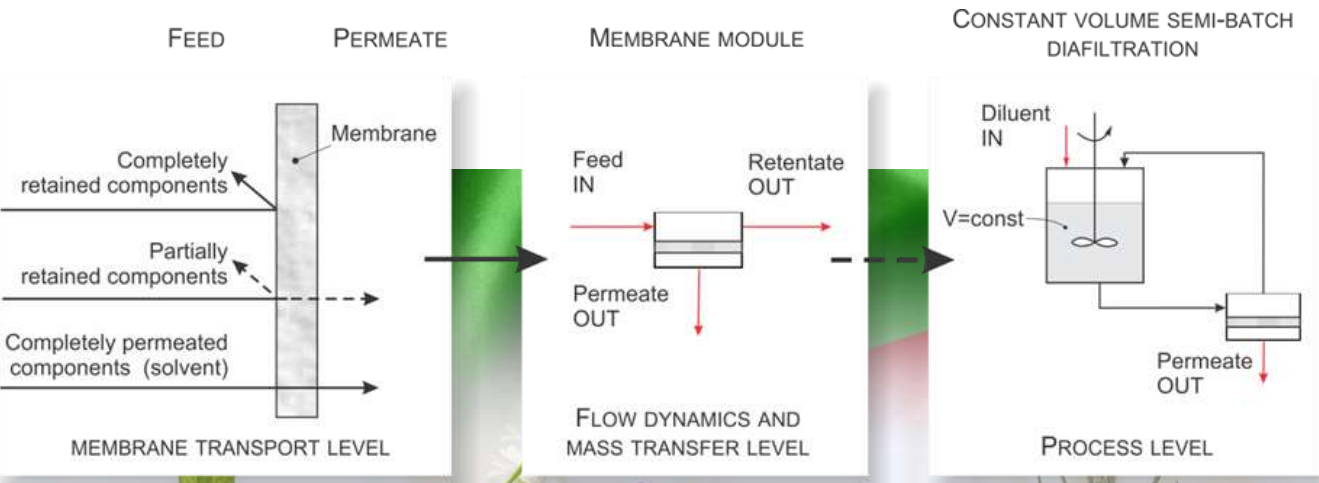
**WP 4. Получаване и пречистване на биологично активни вещества от лечебни и ароматни растения чрез мембранно разделяне.**



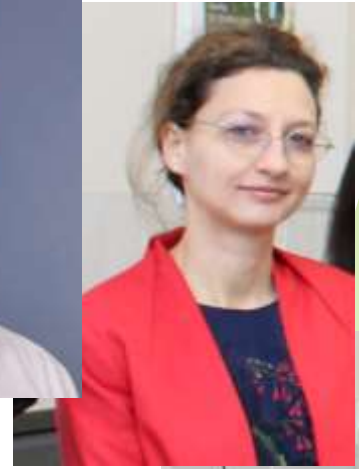
- 4.1. Проучване на нови алтернативи за валоризиране на отпадъчните продукти при производството на етерични масла от ароматни растения и билки с помощта на наномембранно разделяне.
- 4.2. Разработване на мембрани за обратна осмоза и нанофилтрация с повишена устойчивост на замърсяване от биологично активни компоненти на лечебни и ароматни растения.
- 4.3. Разработване на високо интензивен мембранен модул



**доц. Ч. Чилев**



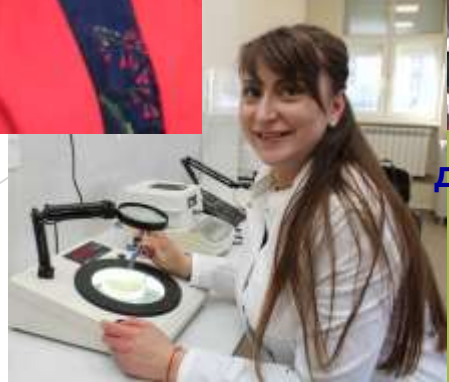
**доц. Д. Пешев**



**гл.ас. Н. Лазарова**



**д-р Л. Пеева**



**ас. Й. Стоянова**

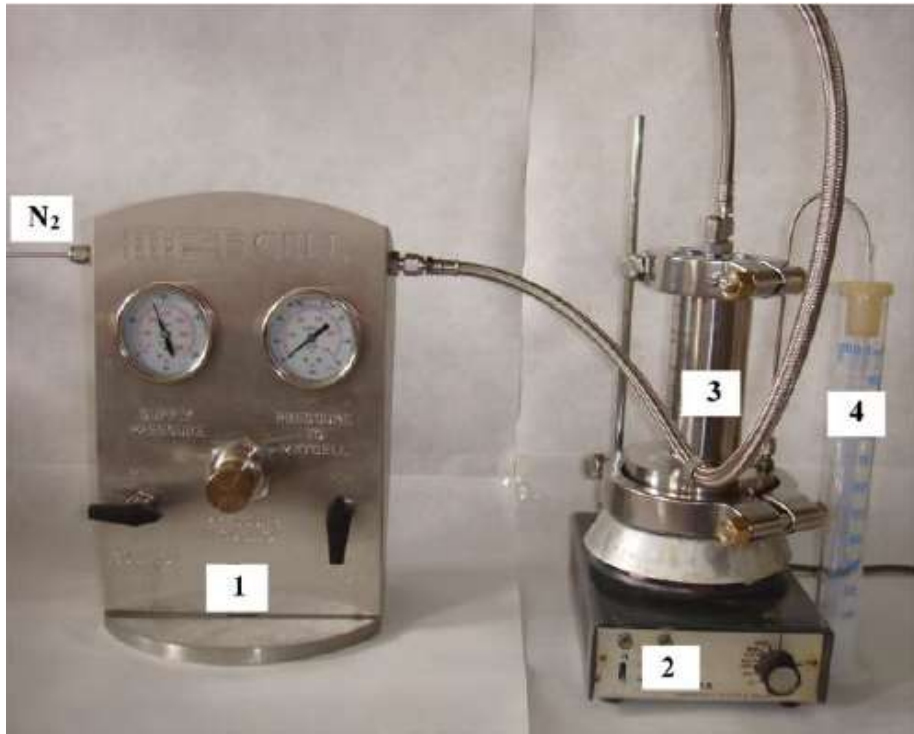




# НАНОФИЛТРУВАНЕ

# ИЗСЛЕДВАНЕ НА БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ НА ОТПАДЪЧНИТЕ ФРАКЦИИ

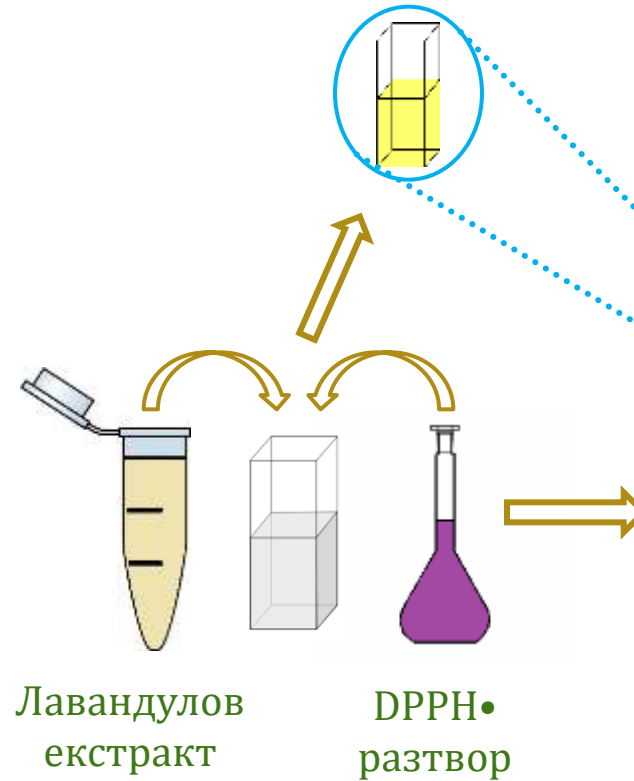
## АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНОСТ - DPPH• метод



Експериментите по нанofilтруване ще се провеждат с помощта на клетка за мембранно филтруване показана на фигурата, в условията на нормален поток, с обем 270 mL (METcell, Evonik Membrane Extraction Technology, London, UK), мембранна повърхност 54 cm<sup>2</sup>, и максимално работно налягане 69 бар, приложено чрез сгъстен азот.

Лабораторна инсталация за нанofilтруване в условията на нормален поток: 1 - блок за управление на налягането; 2 - електромагнитна бъркалка; 3- нанofilтрационна клетка (METcell); 4 - съд за пермеат

Лавандулов екстракт + DPPH• разтвор



UV/Vis - Спектрофотометър

Изследване на проби за антиоксидантна активност с помощта на DPPH- метод

# Публикации по темата на проекта до момента

1. Sirine Jaber, Veronica Nemska, Ivan Iliev, Elena Ivanova, Tsvetelina Foteva, Nelly Georgieva, Ivan Givechev, Dimiter Tanev, Emilia Naydenova, Dancho Danalev, Synthesis, antiproliferative and antimicrobial activities of (KLAKLAK)<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> analogue containing nor-Leu and its conjugates with a second pharmacophore, Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2023, 151-158, <https://doi.org/10.1080/13102818.2022.2162965> (i.f. 1.762, Q3)
2. Dancho Danalev, Ivan Iliev, Stefan Dobrev, Silvia Angelova, Stoiko Petrin, Tatyana Dzimbova, Elena Ivanova, Dessislava Borisova, Emilia Naydenova, Synthesis, antiproliferative effect and in silico logP prediction of BIM-23052 analogs containing Tyr instead of Phe, Pharmaceutics, 2023, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15041123> (i.f. 6.52, Q1)
3. Boryana Borisova, Hristina Nocheva, Stéphane Gérard, Marie Cochard, Dancho Danalev, Synthesis and analgesic activity study of analogues of tetrapeptide FELL, Pharmaceutics, *подготвена за изпращане* (i.f. 5.215, Q1)
4. S. Georgieva, P. Todorov, P. Peneva, Investigation of cinnamyl 5,5'-dimethyl- and 5,5'-diphenylhydantoin Schiff bases as combinative spectroelectrochemical chemosensors for metal ions detection, Sensors (i.f. 3.847, Q1), *submitted*
5. P. Todorov, S. Georgieva, J. Tchekalarova, P. Peneva, P. Mateeva, B. Assenov, E. Dzhambazova, D. Pechlivanova, Synthesis and evaluation of anti-hyperalgesia and anticonvulsant activity of novel VV-hemorphin-5 analogs containing steric restricted amino acids moiety, Pharmaceutics, (i.f. 5.215, Q1), *submitted*
6. P. Todorov, S. Georgieva, J. Tchekalarova, P. Peneva, M. Rangelov and N. Todorova, Synthesis, molecular docking, electrochemical and fluorimetric analysis of new caffeic and cinnamic acid-conjugated hemorphin derivatives designed as potential anticonvulsant agents, European Journal of Medicinal Chemistry (i.f. 7.088, Q1), *подготвена за изпращане*
7. Jana Tchekalarova, Petar Todorov, Miroslav Rangelov, Tzveta Stoyanova, Nadezhda Todorova, Additive anticonvulsant profile and molecular docking analysis of 5,5'-diphenylhydantoin Schiff bases and phenytoin, Drug Development Research (i.f. 5.004, Q2), *подготвена за изпращане*





8. Kameliya Anichina, Nikolai Georgiev, Synthesis of 2-Substituted Benzimidazole Derivatives as a Platform for Development of UV Filters and Radical Scavengers in Sunscreens (Review), *Organics, submitted*

9. Kameliya Anichina, Nikolai Georgiev, Nikolay Lumov, Dimitar Vuchev, Galya Popova-Daskalova, Georgi Momekov, Emiliya Cherneva, Rositsa Mihaylova, Anelia Mavrova, Denitsa Yancheva, Fused Triazinobenzimidazoles Bearing Heterocyclic Moiety: Synthesis, Structure Investigations, In silico and In vitro Biological activity, *Molecules* (i.f. 4.927, Q2), *подготвена за изпращане*

## Участия в Научни форуми и специализации по Дейност 3 на проекта

1. Гл. ас. д-р Вероника Немска - двумесечна специализация в Медицински Университет в Реймс, 01.05-30.06.2023
2. Проф. Данчо Даналев, проф. Нели Георгиева, проф. Емилия Найденова - работно посещение в Медицински Университет на гр. Монпелие, Франция, 29.05-04.06.2023
3. Проф. д-р Петър Тодоров, проф. д-р Яна Чекаларова, доц. д-р Стела Георгиева - 17-ти Международен симпозиум по макроциклична и надмолекулна химия (ISMSC–2023), Рейкявик, Исландия, 24.06. - 30.06.2023
4. Доц. Станислава Владимирова, доц. Камелия Аничина-Заркова - 23-ти Tetrahedron Symposium, Гьотеборг, Швеция, 27-30.06.2023
5. Проф. д-р Петър Тодоров, проф. д-р Яна Чекаларова, доц. д-р Стела Георгиева – Международна конференция по химична термодинамика, Осака, Япония, 30.07-04.08.2023



# Благодаря Ви за вниманието

В колектива на Работна група-3 от страна на ХТМУ в Дейности 1 и 2 участват учени и докторанти от катедри Аналитична химия, Биотехнология, Инженерна химия, Обща и Неорганична химия, Органичен синтез и Органична химия

В колектива на Работна група-3 като партньори в Дейност 2 участват учени от ИНБ, ИЕМПА с музей, ИОХЦФ на БАН, МУ-София и Пловдив

## **БЛАГОДАРИМ ЗА ПОДКРЕПАТА!**

Проект **BiOrgaMST** (Биоактивни органични и неорганични авангардни материали и чисти технологии) по процедура „Създаване на мрежа от изследователски висши училища в България“