



***СТУДЕНТСКА  
НАУЧНА  
СЕСИЯ  
2016***

**С ПОДКРЕПАТА НА**



## **С Ъ Д Ъ Р Ж А Н И Е:**

Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”	4
Катедра „Фармакогнозия”	22
Катедра „Технология на лекарствените средства и биофармация”	36
Катедра „Организация и икономика на фармацията”	42
Катедра „Фармацевтична химия”	46
Катедра „Химия”	50



**КАТЕДРА  
“ФАРМАКОЛОГИЯ, ФАРМАКОТЕРАПИЯ И  
ТОКСИКОЛОГИЯ”**

# ПРОУЧВАНЕ НА АНТИОКСИДАНТНАТА АКТИВНОСТ НА КВЕРЦЕТИН, НАТОВАРЕН В АЛГИНАТНО-ХИТОЗАНОВИ НАНОЧАСТИЦИ ВЪРХУ МОДЕЛ НА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

**АЛБЕНА ЯНИСЛАВОВА ЖЕЛЯЗКОВА**

*Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

**Научни ръководители: доц. В. Цанкова**

**проф. К. Йончева**

**проф. М. Валоти**

**Научен консултант: ас. Деница Алуани**

Основен механизъм на нанотоксичност е повишеното образуване на кислородни радикали, които увреждат протеините, липидите и макромолекули като ДНК. Обект на настоящото проучване е определяне влиянието на включването на кверцетин в алгинатно-хитозанови наночастици върху свободно радикаловите процеси при модел на H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуциран оксидативен стрес върху *Drosophila melanogaster*. Оценката на оксидативните клетъчни процеси е направена въз основа на определяне на тотален глутатион (GSH) и окислената му форма (GSSH) в тъканни хомогенати. Ненатоварените или натоварени с кверцетин наночастици (31 µg/ml) повлияват слабо преживяемостта на *Drosophila melanogaster*; те не намаляват нивата на глутатион като клетъчна защитна система, сравнено с нетретирани контроли, което предполага добър профил на безопасност. Данните от оценката на ефектите на наноразмерните системи върху модел на H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуциран оксидативен стрес при *Drosophila* показват антиоксидантна протекция при частиците, натоварени с кверцетин. Протективните ефекти се проявяват с повишаване нивата на редуциран глутатион и намаляване до 3 пъти на нивото на окислен глутатион, в сравнение с контролата. Натоварването на хидрофобния кверцетин в иновативна наноразмерна лекарство-доставяща система показва по-изразен антиоксидантен ефект, вероятно дължащ се на повишен клетъчен пермеабилитет, което е предпоставка за подобрена бионаличност и оттам, по-широко разпределение на активното вещество в тъканите.

# **РОЛЯ НА ТРАНС-СИГНАЛНИЯ ПЪТ НА МЕДИАЦИЯ НА НЕВРОНАЛНИЯ ИНТЕРЛЕВКИН-6 ПРИ МИШКИ, НОСИТЕЛИ НА ГЕНИ ЗА БОЛЕСТТА НА АЛЦХАЙМЕР**

**АТАНАС ВАСИЛЕВ АТАНАСОВ**

*Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

**Научни ръководители: prof. M. Giralt**

**доц. М. Кондева-Бурдина, дф**

Болезтта на Алцхаймер (БА) е сред най-често диагностицираните форми на деменция. Основни невропатологични белези на заболяването са прогресивната загуба на когнитивни функции и невровъзпалението, в което интерлекин-6 (IL-6) играе потенциално съществена роля.

Целта на настоящата разработка е да се установи влиянието на транс-сигналния път на медиация на IL-6 в мишки, носители на гени за БА.

Първоначално е определен генотипа на животните чрез PCR-анализ. Оценени са поведенческите промени при мишките чрез серия от тестове: - Open field test, Hole-board test, Elevated plus maze test и Morris water maze test.

Установени са статистически значими както генотипни, така и полови различия.

В резултат на проведеното проучване можем да предположим, че на 5-6 месечна възраст, блокирането на IL-6 транс-сигналния път благоприятства хипокампово-зависимото учене и запаметяване при женските мишки.

# НЕВРОПРОТЕКТИВНИ ЕФЕКТИ НА КРЕАТИН МОНОХИДРАТ, В УСЛОВИЯТА НА МРТР И 6-ХИДРОКСИДОПАМИН-ИНДУЦИРАНА ЦИТОТОКСИЧНОСТ ПРИ SH-SY-5Y КЛЕТКИ

**АНА МИЛКОВА ВЕСЕЛИНОВА**

*Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

*Научни ръководители: проф. Георги Момаков, дф*

*доц. Весела Вичева, дф*

*Научен консултант: д-р Камен Стойчев*

*Медицински център “Greenberg”; APharm*

Креатинът е аминокиселинен метаболит, необходим за регенерирането на макроергичния АТФ и респективно за биоенергетиката на мускулната тъкан. Тези ефекти обуславят дългогодишната му употреба като суплемент при спортисти. През последните десетилетия обаче, множество проучвания демонстрират плейотропни ефекти, с потенциална клинична трансляция при разнообразни състояния, като невродегенеративни заболявания (болест на Алцхаймер, болест на Паркинсон, ALS и др.), хронична мускулна дистрофия, сърдечно-съдови заболявания, като така разширяват интереса към потенциалното клинично валидиране на креатина като лекарствено вещество. Настоящата студия е насочена към проучване на цитопротективния потенциал на конвенционален и буфериран (с оглед оптимизиране на стабилността) креатин при два модела на невродегенеративния процес при болестта на Паркинсон, а именно метилфенилтетрахидропиридин (МРТР) и 6-хидроксидопамин 6(OH)DA-индуцирана цитотоксичност при SHSY-5Y човешки клетки, с характеристика на допаминергични неврони. SHSY-5Y клетки бяха посяти в 96-ямкови микроплаки и след 24 часа бяха третирани с 6-(OH)DA (200, 100, 50 или 25  $\mu\text{mol/L}$ ) или МРТР (100, 50, 25 или 12.5  $\mu\text{mol/L}$ ) самостоятелно или в комбинация с 0.2 или 0.5  $\text{mmol/L}$  креатин (конвенционална форма или буфериран препарат). След 24 часова експозиция степента на апоптотична фрагментация на геномната ДНК бе оценена с помощта на “Cell death detection ELISA kit<sup>TM</sup>” (Roche Applied Science).

И двата невротоксина предизвикаха значимо, концентрационно-зависимо повишаване на нивата на хистон-асоциирани ДНК фрагменти, които са индикативни за индукция на апоптоза. Съвместното прилагане на конвенционален или буфериран креатин в концентрация от 0.5  $\text{mmol/L}$  се свързва със значима протекция на допаминергичните неврони от апоптогенното действие на двата невротоксина. При това невропотективните ефекти са по-изразени при буферирания креатин, но не са значими и при двата препарата при прилагане в по-ниската концентрация. Тези данни очертават потенциалните механизми на креатина като невропотективно средство при болест на Паркинсон и демонстрират предимството на буферираната форма, в сравнение с конвенционалния необработен продукт.

# ***IN VITRO* ЦИТОТОКСИЧНОСТ И АНТИОКСИДАНТНИ ЕФЕКТИ НА ПОЛИМЕРНИ НАНОЧАСТИЦИ, НАТОВАРЕНИ С ПРОПОЛИС, ВЪРХУ МОДЕЛ НА НЕЕНЗИМНО ИНДУЦИРАНА ЛИПИДНА ПЕРОКСИДАЦИЯ**

**БОРЯНА СВЕТЛОЗАРОВА ДИМИТРОВА**

*Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

**Научни ръководители: Доц. Вирджиния Цанкова, дф**

**Проф. Петър Петров, дн**

**Консултант: Доц. Магдалена Кондева-Бурдина, дф**

Прополисът е продукт от природен произход, който се състои от биоактивни съединения, като флавоноиди, терпени, фенолни киселини и др. Той проявява широк спектър от фармакологични свойства, между които антибактериални, противовирусни, противовъзпалителни, имуномодулиращи, антиоксидантни и др. Антиоксидантните му ефекти са най-вероятно свързани с флавоноидното му съдържание. Един от съвременните подходи за преодоляване на слабата му водоразтворимост е включването на прополиса в полимерни наночастици.

В настоящото изследване са проследени ефектите на натоварени и натоварени с прополис полимерни мицели от вида ядро-обвивка, изградени от съполимер poly(ethylene oxide)-*block*-poly(n-butyl acrylate), върху модел на Fe<sup>2+</sup>/Ascorbic acid индуцирана липидна пероксидация в изолирани микрозомни от черен дроб на плъх. Като маркер за про-оксидантен ефект са определяни нивата на малондиалдехид (MDA). Проследена е и цитотоксичността върху хепатомна клетъчна линия Hep G2 *in vitro*.

Резултатите показват, че приложен самостоятелно върху изолирани микрозомни, изследваният полимер проявява статистически значим про-оксидантен ефект само във високи концентрации 200 µg/ml (повишаване на MDA с 33%, спрямо контролата). В условията на неензимно индуцирана липидна пероксидация полимерните мицели, натоварени с прополис проявяват статистически значим, концентрационно зависим, антиоксидантен ефект, както следва: в концентрации от 200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml и 25 µg/ml намаляват съответно продукцията на MDA с 60%, с 53%, с 45%, и с 29%, спрямо токсичния агент (Fe<sup>2+</sup>/Ascorbic acid). Цитотоксични ефекти върху HepG2 клетките при чистия и при натоварения прополис се наблюдават при концентрации над 100 µg/ml (статистически анализ Анова с пост-тест на Дънет, спрямо контрола).

От проведеното проучване и получените резултати бе установено, че полимерните мицели, натоварени с прополис, проявяват изразен концентрационно зависим антиоксидантен ефект в модел на неензимно индуцирана липидна пероксидация в изолирани чернодробни микрозомни и имат добър профил на безопасност върху HepG2 клетки.



# ФАРМАКОЛОГИЧНО ПРОУЧВАНЕ НА БИОРАЗГРАДИМИ ПОЛИМЕРНИ МИЦЕЛИ КАТО ЛЕКАРСТВО-ДОСТАВЯЩИ СИСТЕМИ ЗА КУРКУМИН

**ДАЯНА КИРИЛОВА ГЕРГОВА**

*Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

**Научни ръководители: Проф. Георги Момаков, дф**

**Доц. Деница Момакова, дф**

Разработването на биосъвместими, биоразградими, рН-чувствителни наноразмерни лекарство-доставящи системи за антинеопластични съединения е от огромен изследователски и научно-приложен интерес, тъй като позволява както оптимизиране на неблагорпийни физикохимични и фармакокинетични особености на включените вещества, така и прицелно насочване до малигнените новообразувания, а при новите поколение нано-носители дори до специфични субклетъчни компартименти и органели. Куркумин (диферуоилметан) е природен пигмент с плейотропна противотуморна и противовъзпалителна активност, който обуславя подчертания интерес към разработването му като антинеопластично лекарство. Проблемните му физикохимични свойства и асоциираната с тях незадоволително ниска системна бионаличност обуславят търсенето на подходи за оптимизиране на фармакокинетиката на куркумин чрез инкорпорирането му в различни природни и синтетични макромолекулни, сърфактантни, липидни или неорганични наноносители.

Цел на настоящето настоящо проучване е оценка на възможностите за прицелно доставяне на куркумин посредством ди-блокови биоразградими съполимери на основата на поли(D,L-лактид)(PL) и поли(N,N-диаминометиламиноетилметакрилат) (PDMAEMA) блокове. С оглед оптимизиране на клетъчната кинетика и прицелно доставяне до вътреклетъчни компартименти блоковите съполимери са функционализирани с трифенилфосфониеви катиони (TRP). Тези амфибилни съполимери самоагрегират до наноразмерни мицели във водна среда и позволяват натоварването на куркумина в хидрофобната им сърцевина. Проведеното *in vitro* проучване на ненатоварените блокови съполимери показва тяхната токсикологична инертност, по отношение на човешки клетъчни линии с различен произход и характеристики. Заредените с куркумин носители не само не компрометират, но дори потенцират някои от фармакологичните му ефекти. Установена е индукция на програмирана клетъчна смърт, както и по-изразено потискане на ядрения фактор NFκB при химиочувствителни и при резистентни туморни модели, в сравнение със свободния, куркумин. Представените резултати очертават разработените системи като перспективни платформи за прицелно доставяне и освобождаване на природното антинеопластично съединение куркумин.

# ЦИТОПРОТЕКТИВНИ ЕФЕКТИ НА КРЕАТИН В УСЛОВИЯ НА *IN VITRO* МОДЕЛИ НА МИТОКСИЧНОСТ И ХОНДРОТОКСИЧНОСТ

**ДЕНИЦА ДОБРЕВА ИВАНОВА**

*Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

*Научен ръководител: проф. Георги Момаков, дф*

*научен консултант: д-р Камен Стойчев,*

*Медицински център “Greenberg”; APharmaceuticals*

Ендогенният аминокиселинен метаболит креатин е необходим за възстановяването на АТФ в мускулните клетки, което обуславя важната му роля за биоенергетиката на мускулната тъкан и респективно се счита за механистична основа на приложението му във високи дози като суплемент при лекоатлети, футболисти, силови атлети и в бодибилдинга. В последните години се натрупаха редица данни за собствени фармакологични ефекти на това съединение, в т.ч. локален тъканно буфериращ ефект, подобряване на интегритета на епитела, както и цитопротективни ефекти по отношение на различни токсични нокси и експериментални системи.

Цел на настоящото проучване е оценка на цитопротективния ефект на конвенционална и буферирана форма на креатин в условията на *in vitro* модели на *ciprofloxacin*-индуцирана хондротоксичност и *lovastatin*-индуцирана миотоксичност.

Двете моделни нокси водят до изразено, концентрационно-зависимо потискане на жизнеността на прицелните клетъчни популации, респективно човешки трансформирани хондроцити (SW1353) или рабдомицити (RD), оценена с помощта на МТТ-тест. Едновременното прилагане на *ciprofloxacin* и креатиновите препарати се свързва с намаляване на цитотоксичността на флуорохинолона по отношение на култивираните човешки хондроцити. Аналогично, съвместната експозиция на рабдомицитите с креатин и *lovastatin* е свързана със значима протекция от цитотоксичния ефект на статина. Буферираната формула на креатина се характеризира с по-изразена протективна активност и при двата модела, което вероятно е свързано с по-висока стабилност в условията на избраната експериментална система.

Получените данни показват, че ефектите на креатина като суплемент в спорта са свързани не само с добре известната роля по отношение на енергийния метаболизъм на мускулните клетки, но също и с алтернативни механизми на благоприятно повлияване на опорно-двигателната система, с потенциално транслиращо значение.

**ОЦЕНКА ЕФЕКТИТЕ НА ФЛАВОНОИДИ,  
ИЗОЛИРАНИ ОТ НАДЗЕМНАТА ЧАСТ НА *CHENOPODIUM  
BONUS-HENRICUS L.*,  
ВЪРХУ ИЗОЛИРАНИ СИНАПТОЗОМИ ОТ ПЛЪХ**

**ДИМИТРА ЖИВКОВА КЪРПАЧЕВА**

*Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

*Научни ръководители: доц. М. Кондева-Бурдина, дф*

*доц. В. Цанкова, дф*

Целта на настоящата разработка е проследяване ефектите на флавоноиди, изолирани от надземната част на *Chenopodium bonus-henricus L.*, върху изолирани синаптозоми от плъх.

Синаптозомите са получени чрез многократно диференциално центрофугиране, използвайки Percoll градиент и са инкубирани с флавоноидите в концентрация 100  $\mu\text{M}$ . За оценка възможните невропротективни ефекти на флавоноидите са определяни синаптозомална жизненост чрез МТТ-тест и ниво на редуциран глутатион.

Приложени самостоятелно, изследваните флавоноиди – ChBhnf-1, ChBhnf-2, ChBhnf-3, ChBhnf-4, ChBhnf-5, ChBhnf-6, ChBhnf-7, ChBhnf-8, ChBhnf-9 и Silybin, не проявяват статистически значим токсичен ефект.

В условията на 6-хидрокси допамин-индуциран оксидативен стрес, веществата дават статистически значим, изявен протективен и антиоксидантен ефекти върху изолираните синаптозоми, съхранявайки синаптозомалната жизненост и нивото на редуциран глутатион. Ефектите са съизмерими с тези на Silybin.

**ПРОСЛЕДЯВАНЕ АНТИОКСИДАНТНИТЕ ЕФЕКТИ НА  
ФЛАВОНОИДИ, ИЗОЛИРАНИ ОТ НАДЗЕМНАТА ЧАСТ НА  
*CHENOPODIUM BONUS-HENRICUS* L.,  
ВЪРХУ ИЗОЛИРАНИ МИКРОЗОМИ ОТ МЛАДИ И СТАРИ  
ПЛЪХОВЕ**

**ДИЯНА РУМЕНОВА КАЛАЙДЖИЕВА**

*Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

**Научни ръководители: доц. М. Кондева-Бурдина, дф**

**доц. В. Цанкова, дф**

В настоящата разработка са проследени антиоксидантните ефекти на флавоноиди, изолирани от надземната част на *Chenopodium bonus-henricus* L., при модел на не-ензимно-индуцирана липидна пероксидация върху изолирани микрзоми от млади и стари плъхове.

Микрзомите са получени чрез многократно диференциално центрофугиране и са инкубирани с флавоноидите в концентрация 100  $\mu$ M. За оценка антиоксидантния потенциал на флавоноидите се определя продукцията на малонов диалдехид (MDA) – биомаркер за липидна пероксидация.

Продукцията на MDA е статистически значимо повишена при старите плъхове в сравнение с младите с 28 %.

Индуцираната с желязо/аскорбат липидна пероксидация при младите плъхове води до статистически значимо повишена продукция на MDA с 150 %, а при старите плъхове – с 260 %, спрямо контролата (не-третиран микрзоми).

При модел на не-ензимно-индуцирана липидна пероксидация, флавоноидите проявяват статистически значим антиоксидантен ефект, по-изявен при микрзоми, получени от стари плъхове. Ефектите са съизмерими с тези на Silybin – основен компонент на силимарина, който е класически антиоксидант и хепатопротектор.

# ЕФЕКТИ НА ПРАМИПЕКСОЛ, НАТОВАРЕН В МЕЗОПОРЕСТИ СИЛИКАТНИ НАНОЧАСТИЦИ (HMS) ВЪРХУ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ИИ ВИВО

**ЕЛЕНА ЛЮБОМИРОВА ГЕОРГИЕВА**

*Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

**Научни ръководители: доц. В. Цанкова**

**проф. К. Йончева**

**проф. М. Валоти**

**Научен консултант: Йордан Йорданов**

Приложението на наноразмерни лекарство-доставящи системи във фармацията налага провеждането на задълбочени токсикологични проучвания за оценка на техните ефекти и рисковете за биологичните системи.

Целта на проучването бе оценка на ефектите на прамипексол, приложен самостоятелно (32 µg/ml; 180µg/ml) и натоварен в силикатни наночастици от типа HMS (hollow mesoporous silica nanoparticles) в модел на индуциран оксидативен стрес върху *Drosophila melanogaster in vivo*. Проследявани са показателите виталитет и нивата на тотален глутатион, както и на редуцираната (GSH) и окислената (GSSG) му форма в нетретирани и в третирани с водороден пероксид *Drosophila melanogaster* (2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 24 h).

Резултатите от проучването показват, че прамипексол, приложен самостоятелно или натоварен в HMS наночастици, води до деплеция на нивата на GSH при нетретирани с водороден пероксид *Drosophila melanogaster in vivo*. Индуцирането на оксидативен стрес (2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) върху *Drosophila melanogaster* доведе до повишаване нивата на GSSG, в сравнение с нетретирани контроли. В модел на H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - индуциран оксидативен стрес, не бе наблюдавана статистически значима протекция върху виталитета на *Drosophila melanogaster*, както от самостоятелно приложения прамипексол, така и от прамипексол, натоварен в HMS (32 µg/ml; 180µg/ml). Предтритирането с ненатоварен и натоварен в HMS прамипексол (180µg/ml; 48 h) показва статистически значима протекция, изразена в понижаване на нивата на окисления глутатион (GSSG) (респективно с 81,88 % и 64,03 %), сравнено с тези на позитивната контрола (третирани с H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Подобна тенденция е наблюдавана и при предтритирането с ненатоварен и натоварен в HMS прамипексол (32 µg/ml; 48 h), като понижението в нивата на окисления глутатион е съответно с 44% и 56% спрямо позитивната контрола.

# **ЕФЕКТ НА СЕРИЯ НОВОСИНТЕЗИРАНИ ЛАНТАНОИДНИ КОМПЛЕКСИ НА АМИНООРОВОТА И ОРОВОТА КИСЕЛИНА ВЪРХУ ИЗОЛИРАНИ ХЕПАТОЦИТИ ОТ ПЛЪХ**

**ЙОАНА НИКОЛАЕВА ПЪРВАНОВА**

*Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

**Научен ръководител: доц. М. Кондева-Бурдина, дф**

В настоящото проучване са проследени ефектите на серия новосинтезирани лантаноидни комплекси на аминокиселините (I-ва група – SmAOA, GdAOA, DyAOA, PrAOA, HoAOA, ErAOA, InAOA, GaAOA) и аминокиселините (II-ра група – InOA, GaOA) киселини върху изолирани плъши хепатоцити. Хепатоцитите са получени чрез двустепенна, колагеназна перфузия и са инкубирани с двете групи комплекси в концентрация 100  $\mu$ M. Определени са биомаркерите, характеризиращи функционално-метаболическия статус на изолираните хепатоцити – клетъчна жизнестойкост (тест трипаново синьо), активност на ензима лактатдеhidрогеназа (LDH), ниво на редуциран глутатион (GSH), продукция на малондиалдехид (MDA).

Всички изследвани комплекси, приложени самостоятелно, проявяват статистически значим цитотоксичен ефект върху изолираните хепатоцити, спрямо контролата (не-третираните хепатоцити).

От двете групи с най-слаб статистически значим цитотоксичен ефект са комплексите InAOA и GaAOA, които намаляват:

- клетъчната жизнестойкост с 19 % и с 18 %, а нивото на GSH с 10 % и с 15 %, респективно, спрямо контролата (не-третираните хепатоцити);

и повишават:

- освобождаването на LDH с 96 % и с 87 %, а продукцията на MDA с 55 % и с 45 %, респективно, спрямо контролата.

Разликата в ефектите на комплексите върху изолираните хепатоцити, най-вероятно се дължи на наличието на различни лантаноиди.

# ЕФЕКТИ НА ALCESEFOLISIDE, ИЗОЛИРАН ОТ *A. MONSPESSULANUS SSP. MONSPESSULANUS L.* ВЪРХУ МОДЕЛ НА ТЕТРАХЛОРОМЕТАН-ИНДУЦИРАНА МОЗЪЧНА ТОКСИЧНОСТ

МАРИЯ ЗДРАВЕМИР МИХАЙЛОВА

*Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

*Научен ръководител: доц. Румяна Симеонова дф*

Целта на дипломната работа е да се проучат възможните невропротективни свойства на алцезефолизид (AF) изолиран *Astragalus monspessulanus spp. Monspessulanus l.*, при модел на тетрахлорометан (CCl<sub>4</sub>) индуцирана мозъчна токсичност.

В експериментите са използвани мъжки плъхове, порода Wistar.

Животните са третирани в продължение на 14 дни, като са разделени съответно в 6 групи (n=4) – контролна (NaCl 0.9% рo); група, третирана с AF (50 mg/kg/ 14 дни, ip); група, третирана със силимарин (SM) (100 mg/kg/ 14 дни, ip); с тетрахлорометан (10% р-р, 0.5 mL/ плъх, еднократно на 7 ден, ip); и плъхове, на които 7 дни са прилагани съответно AF и SM в дози като при групи 2 и 3, след което на 7 ден е въведен еднократно CCl<sub>4</sub> (като група 4) и след това са третирани още 7 дни с изследваните вещества. На 15 ден мозъците от експерименталните животни са хомогенизирани и са измерени спектрофотометрично биохимичните параметри редуциран глутатион (GSH), малонов диалдехид (MDA), супероксиддисмутаза (SOD) и каталаза (CAT).

Резултатите от експериментите показват, че третирането на експерименталните животни с тетрахлорометан, води до понижаване нивото на мозъчния GSH с 29 %, повишаване количеството на MDA с 41% и намаляване активността на мозъчните SOD и CAT с 38% и с 48% съответно, спрямо контролната група. Невротоксичният ефект на CCl<sub>4</sub> намалява статистически значимо в групите, предварително третирани както с AF, така и със SM. Повишението от невротоксиканта MDA намалява с 23%, GSH се повишава със 64%, активността на SOD и CAT се повишават съответно с 53% и 77% спрямо чистия тетрахлорометан. Ефектите на AF върху мозъчните биохимични параметри са сравними с тези на силимарина.

Експерименталните данни от проучванията показват, че новоизолираното вещество алцезефолизид проявява невропротективен и антиоксидантен ефект при тетрахлорометан индицирана мозъчна токсичност.

# **IN VITRO EFFECTS OF NEWLY SYNTETHIZED LANTANOID COMPLEXES OF AMINOOROTIC AND OROTIC ACIDS ON ISOLATED RAT LIVER MICROSOMES**

**MELINA GKRINOVER**

*Department „Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology”*

***Scientific supervisors: assoc. prof. M. Kondeva-Burdina, PhD***

***assoc. prof. V. Tzankova, PhD***

In this study we investigate the effects of newly synthesized lanthanoid complexes of aminoarotic and orotic acid (at concentration 100  $\mu$ M) on isolated rat liver microsomes. The microsomes were obtained by differential centrifugation and the malondialdehyde (MDA) production was measured as biomarker of lipid peroxidation. The effects were compared to those of aminoarotic (AOA) and orotic acids (OA).

Administered alone, the complexes didn't revealed statistically significant pro-oxidant effects on isolated rat liver microsomes.

In conditions of non-enzyme-induced lipid peroxidation, the complexes showed statistically significant antioxidant effects, most prominent in complexes InAOA and GaAOA. Administered alone, the pro-oxidant mixture iron/ascorbate, increased the production of MDA with 191 %, compared to the control (non-treated microsomes). InAOA and GaAOA decreased the MDA production statistically significantly with 74 %, compared to the pro-oxidant mixture.

The antioxidant effects of the lanthanoid complexes might be due to the presence of different lanthanoids in these complexes.



# **ПАТОЛОГИЧЕН СИНЕРГИЗЪМ МЕЖДУ БОЛЕСТТА НА АЛЦХАЙМЕР И ДИАБЕТ: ПРОМЯНА ЕКСПРЕСИЯТА НА ПРОТЕИНОВИ КОМПОНЕНТИ ВЪВ ФРОНТАЛНАТА ЗОНА НА МОЗЪЧНАТА КОРА**

**МИЛЕНА МИХАЛЕВА КОСТОВА**

*Катедра “Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология“*

*Научни ръководители: prof. M. Unzeta Lopez*

*доц. M. Кондева-Бурдина, дф*

Болезтта на Алцхаймер (БА) е мултифакторно заболяване, при което основните патологични единици, характеризиращи невротоксичните ефекти са образуването на екстрацелуларни сенилни плаки (amyloid- $\beta$ 42) и дегенеративни промени в интрацелуларните неврофибри. Прогресивните невродегенеративни процеси са необратими и водят до загуба на неврони и синапси, астроцитна активация и недостиг на невротрансмитера ацетилхолин. Развитието им в мозъчната кора се свързва с промените в когнитивните възможности при болни от БА. Поражения от подобен характер се наблюдават и при пациенти над 65 години, страдащи от диабет. Нарастващ брой епидемиологични проучвания потвърждават ролята на диабета като рисков фактор за развитие на БА. Потенциалният патологичен синергизъм е свързан главно с общи за двете заболявания физиологични промени, резултат от процеси на стареене, възпаление, оксидативен стрес, регенериране на крайни продукти от гликирането (AGEs), агрегация на А $\beta$  и васкуларни промени.

Предмет на настоящото проучване е проследяване експресията на ключови протеини, характерни за общите патологични процеси при БА и диабет. Проследена е експресията на 14 протеина в области от фронталната мозъчна кора при 31 пациенти, разделени в 4 групи: БА, диабет, БА и диабет, контролна група без патология. Подбраният протеинов набор е анализиран количествено чрез Western blot анализ. Резултатите показват повишена експресия на изследваните протеини в групата с БА и диабет спрямо контролната група. Експресията на част от изследваните протеините е повишена в групата с БА и диабет спрямо групата с БА. Промяната в експресията на тези ключови протеини може да се разглежда като потенциален биомаркер за оценка на тези заболявания.

# ИЗСЛЕДВАНЕ РОЛЯТА НА НЕВРОТОКСИНА LYNX1 ВЪРХУ ДУКТАЛНИЯ АДЕНОКАРЦИНОМ НА ПАНКРЕАСА

**НЕВЕНА ВЕСЕЛИНОВА НЕДЯЛКОВА**

*Катедра “Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология”*

*Научни ръководители: проф. д-р Спиро Константинов, дм*

*Prof. Dr. med. Martin R. Berger*

*Научен консултант: Dr. med. Doaa Ali Ahmed, PhD Student*

Дукталният аденокарцином на панкреаса (PDAC) е четвъртата водеща причина за смъртност от малигнено заболяване в развитите страни. Това е едно от злокачествените заболявания, при които петгодишната преживяемост не се е подобрила през последните три десетилетия.

Сред рисковите фактори за възникване на това заболяване наред с тютюнопушенето, хроничния панкреатит и диабета, през последните години все по-голяма роля се отдава на хроничния физиологичен стрес. PDAC клетките експресират редица рецептори, характерни за автономната нервна система, като nAChR, mAChR и др.

Във връзка с все по-убедителната роля на холинергичната инервация в генезиса на панкреатичния аденокарцином, интерес на текущата дипломна работа представлява ролята на невротоксина *lynx1* при това заболяване. Нормално *lynx1* модулира функцията на nAChR-ите в невроните чрез промяна в чувствителността на рецептора. Според някои публикации *lynx1* формира комплекс с  $\alpha 7$ -nAChR в клетките на бронхиалния епител и действа като намалява ефектите, свързани с активирането на  $\alpha 7$  рецепторите.

На фона на тези данни някои скорошни изследвания сочат, че *lynx1* е с понижена експресия по време на чернодробна колонизация при дуктален аденокарцином в сравнение с неговата експресия *in vitro*. В настоящия проект чрез ‘knockdown’ на гена, кодиращ *lynx1*, в няколко PDAC клетъчни линии се прави оценка на неговата функция за етиологията и патогенезата на тази неоплазия.

Редукцията в експресията на *lynx1* в клетките дава възможност да се изследва връзката между този невротоксин и функцията на  $\alpha 7$ nAChR в панкреатичните клетъчни линии, както на генетично ниво, така и на ниво протеини. Интерес представлява и въпросът как ‘knockdown’-ът на *lynx1* повлиява сигналните пътища, свързани с неопластичния процес – mTOR/PI3K/Akt, апоптотичните пътища и миграцията на клетките. Получените резултати, показващи значително понижение в експресията на протеини от mTOR и PI3K пътищата, налага сравняването на тези данни със стандартен PI3K инхибитор, като Wortmannin.

Не на последно място, *lynx1*, като протеин, типично експресиран в нервната система и с убедителни данни за експресията му при панкреатичния аденокарцином, повдига за пореден път въпроса, реципрочни ли са един на друг процесите на невродегенерация и неоплазия. В текущата дипломна работа този проблем е засегнат като се прави сравнение между ролята на Galantamine като агонист на nAChR и стандарт в лечението на болестта на Алцхаймер, на  $\alpha$ -Bungarotoxin като антагонист на nAChR и прототип на *lynx1* и мястото на самия *lynx1* в холинергичната инервация при PDAC клетките.

# ОНКОФАРМАКОЛОГИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ НА АРСЕНОВ ТРИОКСИД ПРИ ХИМИОЧУВСТВИТЕЛНИ И РЕЗИСТЕНТНИ МОДЕЛИ НА AML

**ПАТРИСИЯ ОГНЯНОВА ГЕОРГИЕВА**

*Катедра “Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология“*

**Научни ръководители: проф. Георги Момеков, дф,**

**доц. Румяна Симеонова, дф**

**Научен консултант: маг. фарм. Ивелина Железова**

Арсеновият триоксид (Trisenox®) е ефективен антинеопластичен медикамент като монотерапия при остра промиелоцитна левкемия и при наличие на рецидив след комбинирана цитостатична терапия. Той позволява да се постигнат ремисии и след рецидив след лечение с *all-trans* Retinoic acid (ATRA). Медикаментът предизвиква преразпределение на PML и разграждане на фузионния протеин. Счита се, че As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> е апоптогенен цитостатик, който предизвиква алтерация на сигналните пътища на програмираната клетъчна смърт. Индукцията на апоптоза се отдава на смущения в редокс-процесите и потискане на глутатионпероксидазата, както и на директно активиране на каспаза 1 и 2. Целта на настоящето проучване е детайлно проучване на антинеопластичните и про-апоптогенни ефекти на As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> при химиочувствителни и резистентни туморни модели. Проучена е антипролиферативната и цитотоксична активност на съединениято при различни клетъчни линии с произход от остра миелоидна левкемия, в т.ч. при разработената в Лабораторията по експериментална химиотерапия HL-60/CDDP, с индуцирана резистентност към cisplatin. Проучването показва As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> е по-слабо ефективен при HL-60 /CDDP, в сравнение с химиочувствителната линия HL-60 с индекс на резистентност 2.55. Детайлното охарактеризиране на тази линия показва, че резистентността е медирана както от свръхекспресия на MRP-1 транспортера, така и от повишени нива на редуциран глутатион (GSH) и на антиоксидантните ензими глутатион-S-трансфераза (GST), глутатионпероксидаза (GPx), глутатион-редуктаза (GR), в сравнение с химиочувствителната линия HL-60.

При MDR-модела HL-60/DOX, обаче е налице колатерална чувствителност с индекс на резистентност под 1 (0.42). При линията NB-4 и HL-60/DOX се установяват съпоставими стойности на IC<sub>50</sub>. Фармакодинамичните студии показват, че при тестваните туморни модели As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> комплексно интервенира в NF-κB зависимите сигнални пътища. Получените данни очертават интереса към бъдещи по-задълбочени проучвания на Trisenox® при AML, характеризиращ се с множествена лекарствена резистентност.

# ЕФЕКТИ НА ALCESEFOLISIDE, ИЗОЛИРАН ОТ A. MONSPESSULANUS SSP. MONSPESSULANUS L. ВЪРХУ МОДЕЛ НА ТЕТРАХЛОРМЕТАН-ИНДУЦИРАНА ЧЕРНОДРОБНА ТОКСИЧНОСТ

**ЦВЕТЕЛИНА НАНОВА АТАНАСОВА**

*Катедра “Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология“*

*Научен ръководител: доц. Румяна Симеонова дф*

Целта на настоящото изследване е да се проучи хепатопротективния потенциал на флавоалкалоида Алцезефолизид (AF), изолиран от *Astragalus monspessulanus ssp. monspessulanus l.*

Ефектите на веществото са проследени в модел на тетрахлорометан (CCl<sub>4</sub>) -индуцирана хепатотоксичност при мъжки плъхове порода Wistar.

Животните са разделени в 6 групи (n=4): първа група – контрола, третирана с физиологичен серум (5 ml/ kg/ po, 14 дни); втора група - третирани с AF (50 mg/kg/ 14 дни, po), трета – със SM (100 mg/kg/ 14 дни, po), четвърта – с CCl<sub>4</sub> (10% p-p, 1.25 mL/kg, еднократно на 14 ден, po). 5 и 6 групи са третирани 7 дни съответно с AF и със SM (както групи 2 и 3). На 7 ден е въведен еднократно CCl<sub>4</sub> и след това са третирани още 7 дни с изследваните вещества. На 15 ден плъховете от всички експериментални групи се декапитират и черният им дроб се хомогенизира за спектрофотометрично определяне на биохимичните параметри редуциран глутатион (GSH), малонов диалдехид (MDA), глутатион-пероксидаза (GPx), глутатион-редуктаза (GR) и глутатион-S-трансфераза (GST).

От резултатите се установява, че CCl<sub>4</sub> статистически значимо повишава продукцията на MDA с 41,3 %, намалява количеството на GSH с 51%, както и понижава активността на антиоксидантните ензими GPx, GR, GST с около 45% спрямо контролата.

Алцезефолизидът, прилаган самостоятелно, не повлиява изследваните параметри. При седемдневното предтретирането с AF, последващото приложение на CCl<sub>4</sub> и още 7 дни с AF, се наблюдава статистически значимо подобрение в изследваните параметри. AF намалява повишеното от CCl<sub>4</sub> ниво на MDA с 23 %, повишава нивото на GSH със 77%, както и повишава активността на изследваните антиоксидантни ензими GPx, GR, GST с 54%, 33% и 66% съответно, спрямо хепатотоксиканта тетрахлорометан.

Експерименталните данни от проучванията показват, че новоизолираното вещество проявява хепатопротективен и антиоксидантен ефект, съпоставим с този на силимарина при тетрахлорометан индицирана чернодробна токсичност.

# **SYNTHESIS AND *IN VITRO* EFFECTS OF NEWLY CAFFEINE DERIVATIVES ON NEUROBLASTOMA CELL LINE SH-SY5Y**

**WALAA ALELIWI HAYAN**

*Department „Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology”*

***Scientific supervisors: assoc. prof. M. Kondeva-Burdina, PhD***

***assoc. prof. M. Georgieva, PhD***

In this study we investigate the effects of 6 newly synthesized caffeine derivatives on SH-SY5Y cell line. Two of the evaluated compounds **W1** and **W2** were synthesized by us. The proposed synthetic approach is based on interaction of 8-(2-chloroethylamino)caffeine with 4-phenylpiperazine and 4-(2-methoxyphenyl)piperazine in acetone/ethanol media under reflux, under heating at the boiling point of the solvent. In addition triethylamine is added as a hydrochloride acceptor. Crystalline products were obtained and isolated by filtration in 46 % yield for compound **W1** and 49 % for compound **W2**, respectively. No recrystallization was needed. The purity of the target compounds was proven by the corresponding TLC characteristics ( $R_f$  values) and melting points. The structures of the synthesized products were elucidated by IR and  $^1\text{H-NMR}$  spectral analysis.

SH-SY5Y cells are often used as *in vitro* models of neuronal function and differentiation. They are adrenergic in phenotype but also express dopaminergic markers and as such, have been used to study Parkinson's disease.

The compounds were incubated at concentrations: 50  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$ , 200  $\mu\text{M}$ , 300  $\mu\text{M}$  and 500  $\mu\text{M}$ . Administered alone, all exam compounds revealed statistically significant concentration-dependent toxic effects. The optimal concentration for further investigations, with less toxic and good protective effects, was 100  $\mu\text{M}$ .

In conditions of 6-OH-dopamine-induced oxidative stress (at concentration 150  $\mu\text{M}$ ) on SH-SY5Y cell line, all 6 compounds (at concentration 100  $\mu\text{M}$ ) revealed statistically significant neuroprotective effect by preservation the cell viability, measured by MTT-test.



**КАТЕДРА  
“ФАРМАКОГНОЗИЯ”**

# ***SOLANUM CARENSE* – НОВ ПОТЕНЦИАЛЕН ИЗТОЧНИК НА БАВ**

**АНТОАНА САШОВА ЦОЛОВА**

*Катедра „Фармакогнозия”*

**Научен ръководител: Гл. ас. Д. Желева-Димитрова, дф**

**Научен консултант: Гл. ас. Юлиан Войников, дф**

Род *Solanum* е най-големият в рамките на семейство Solanaceae, обхваща над 1700 вида, разпространени по целия свят и включва икономически важни видове като домати, картофи, патладжан и др.

*Solanum carense* Dunal (син. *Solanum schimperianum* Hochst) е тропично растение, разпространено в Судан, южната част на Саудитска Арабия, Йемен. Наскоро от надземната част на вида са изолирани тритерпени, сесквитерпени, стероли, флавоноиди, стероидния алкалоид соланопубамин и алифатни амиди.

Целта на настоящото проучване е фитохимично изследване на корени и стъблена кора от вида *Solanum carense*, определяне антиоксидантната и ацетилхолинестеразна инхибираща активност на изолирани БАВ.

Основният компонент на водно-алкохолния екстракт от корени на *S. carense* е изолиран чрез течна хроматография при ниско налягане и идентифициран чрез HR-ESI-MS, <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР, COSY и HSQC експерименти. Охарактеризирани са LC-MS аналитични профили на амиди на хидроксиканелените киселини (АХКК) в корени и стъблена кора от *S. carense*. За определяне на антиоксидантната активност са използвани колориметрични методи за улавяне на свободни радикали (DPPH, ABTS) и желязо-редуцираща способност (FRAP), докато ацетилхолинестеразна инхибираща активност е определена чрез колориметричен метод на Елман.

От корените на *S. carense* е изолиран хидроксиканеления амид - N<sup>ε</sup>-феруил лизин, който е ново природно съединение. В корени и стъблена кора от *S. carense* чрез HR-MS за първи път са идентифицирани 16 описани в литературата АХКК, производни на путресцин, агматин, кадаверин, спермидин и тирамин. За първи път в род *Solanum* са установени 8 АХКК, между които производни на агматин и кадаверин. N<sup>ε</sup>-феруил лизин показва значителна DPPH (IC<sub>50</sub> = 159.11 μg/mL) и ABTS (IC<sub>50</sub> = 310.06 μg/mL) радикал-улавящата и умерена желязоредуциращата активност (0.020±0.002 mM TE/mg dw). Установената ацетилхолинестеразна инхибиторна активност на N<sup>ε</sup>-феруил лизин (59.07±1.13%) е по-висока в сравнение с тази на тоталните екстракти от корени (33.82±1.74%) и стъблена кора (43.64±2.60 %).

В заключение, изследваното растение *S. carense* е източник на нови природни съединения с антиоксидантна и ацетилхолинестеразна инхибиторна активност и е перспективен обект за бъдещи проучвания.

## **IN VITRO ПОДХОД ЗА ПРОДУКЦИЯ НА СТЕРОЛИ В КОРЕНИ НА *GYPSOPHILA TRICHOTOMA* WEND.**

**БОРЯНА ДИМОВА УЗУНОВА**

*Катедра „Фармакогнозия”*

**Научни ръководители: проф. Ил. Йонкова, дфн**

**проф. Ил. Кръстева, дф**

Растенията са неизчерпаем и перспективен източник за получаване на ефикасни лекарствени продукти. Често пъти съединенията, обуславящи терапевтичния ефект, са редки, тяхното получаване от диворастящи източници е трудно и е съпроводено с намаляване на популациите на защитени лечебни растения. Настоящата дипломна работа е продължение на изследванията в катедрата по Фармакогнозия, свързани с изясняване на химичния състав и *in vitro* култивирането на защитения вид *Gypsophila trichotoma* Wend. (Caryophyllaceae), включен в Червената книга на България. Доказано е, че в корените растението натрупва  $\Delta^7$ -стероли, рядък клас съединения, проявяващи висока активност при лечението на доброкачествена простатна хиперплазия. Проведените изследвания на *G. trichotoma* са основно в две направления: намиране на оптимален състав на хранителната среда, параметри за развитие на коренови култури в *in vitro* условия и култивиране на коренова биомаса, както охарактеризиране на стеролите (стигмаст-7-ен-3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид, стигмаст-7-ен-3-он и стигмаст-7-ен-3-ол), продуцирани в кореновите култури, чрез ВЕТХ метод. Най-висок индекс на растеж на *in vitro* коренови култури се установи при хранителна среда MS-Li (MS – хранителна среда, обогатена с NAA – 2 mg/L), с удвоено съдържание на калций, а най-нисък – при MS-Li среда с наличие на NaCl (1.8 g/L). Резултатите от фитохимичния анализ показват, че присъствието на натриев хлорид в средата оказва положителен ефект върху натрупването на стигмаст-7-ен-3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид. От друга страна наличието на  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$  повлиява положително стероидния синтез, докато при отсъствие на солите на тези елементи стероли в пробите не се откриват.

Получените от проведените изследвания резултати ще допринесат за изясняване на влиянието на минералния състав на хранителната среда върху синтеза и натрупването на редките  $\Delta^7$ -стероли в корени на *G. trichotoma* и предлагат алтернативен метод за продукция на тези ценни вторични метаболити.



# FLAVOALKALOIDS IN *ASTRAGALUS MONSPESSULANUS* SSP. *MONSPESSULANUS* L.

**DIMITRIOS KOPANOS**

*Department of Pharmacognosy*

**Scientific supervisor: Prof. Iliana Krasteva, PhD**

**Scientific consultant: Assist.Prof. P. Zdraveva, PhD**

Flavonoid alkaloids are an unusual group of structurally diverse secondary metabolites with varied pharmacological activities as antineoplastic, immunomodulatory, anti-inflammatory activities, etc. Up to now there is no data for occurrence of flavoalkaloids in the genus *Astragalus*.

*Astragalus monspessulanus* L., family Fabaceae (Montpellier Milk Vetch) is a clump-forming perennial herb, 20-30 cm in height, composed of twenty-one to forty-one oblong to ovate leaflets. Flowers are 2-3 cm long, purple, in an ovoid raceme. The plant has three subspecies – *A. monspessulanus* ssp. *monspessulanus* L., *A. monspessulanus* ssp. *illyricus* (Bernh.) Chater, and *A. monspessulanus* ssp. *teresianus* (Sennen & Elias) Amich. The plant is native to the Iberian Peninsula, France, Switzerland, the Apennine Peninsula, the Balkan Peninsula, Eastern Europe and Northwest Africa. During an ongoing research it was found that the *n*-butanol extract of *A. monspessulanus* ssp. *monspessulanus* exhibited hepatoprotective and antioxidant activity against *in-vitro/in-vivo* CCl<sub>4</sub>-induced acute liver damage, comparable to silymarin. In this study we report the isolation of two new flavonol alkaloids N-(8-methylquercetin-3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1→2)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1→6)]- $\beta$ -D-galactopyranosyl])-3-hydroxy-piperin-2-one and N-(8-methylkaempferol-3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1→2)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1→6)]- $\beta$ -D-galactopyranosyl])-3-hydroxy-piperin-2-one from the extract. Their structures were elucidated by 1D and 2D NMR experiments and HRESIMS. In the model of *t*-BuOOH-induced oxidative stress on isolated rat hepatocytes flavoalkaloids had statistically significant cytoprotective activity, similar to that of silymarin at 60  $\mu$ g/mL.

# ***IN VITRO* PLANT CELL CULTURES OF *LINUM THRACICUM* *SSP. MULTIFLORUM* AND PRODUCTION OF LIGNANS**

**EKATERINI TRAKALIANI**

*Department of Pharmacognosy*

***Scientific Supervisor: Prof. Dr. Sci., PhD. Iliana Ionkova***

Podophyllotoxin is an important plant compound, used to produce cytostatic drugs, etoposide and teniposide. Up to the present the only source for podophyllotoxin and related lignans are the rare Podophyllum plants, which are mainly collected from the wild. If we want to save this species from extinction we have to develop a new and sustainable way of producing lignans from other plant species.

The aims of this thesis are to improve production of ariltetraline lignans *in vitro* in *Linum thracicum* ssp. *multiflorum* and develop *in vitro* strategies for their production. This thesis addresses the possibility of establishing *in vitro* cell cultures in *Linum thracicum* ssp. *multiflorum*. By testing a series of techniques and methods, we indicating how the use of three different plant medium composition to stimulate production of lignans and to select of high producing cell lines.

The results in this study indicate that 6MPOTX (6-methoxy podophyllotoxin) is main compound, found in suspension cultures in three different culture mediums: MS-Li 3%, (MS medium with 3% sucrose and NAA 2mg/L), MS-Li 4% (MS medium with 4% sucrose and NAA 2mg/L) and G48 (MS medium with kinetin 2 mg/L, IAA 0.2 mg/L, 2,4-D 0.1 mg/L and casein 1g/L). The highest quantity of 6MPOTX was found in suspension cultures in MS-Li 4% medium, which we proved with HPLC analysis. Podophyllotoxin was found in traces in all investigated samples. Regarding the Growth Index the best results were obtained in suspension cultures, cultivated in G48 medium. In the end of our investigation and in respect with our goals, our results show that, *Linum thracicum* ssp. *multiflorum* can serve as an alternative way of production of 6MPOTX.

# ФИТОХИМИЧНО ПРОУЧВАНЕ НА *HYPERICUM CERASTIOIDES* (SPACH) N. ROBSON (HYPERICACEAE)

ИЛИЯН ДИМИТРОВ ЖЕЛЯЗКОВ

Катедра „Фармакогнозия”

Научен ръководител: доц. Параскев Недялков, дф

В България род *Hypericum* L. е представен от 22 вида. Разнообразният състав на видовете *Hypericum* определя широкия спектър на биологично действие като противовъзпалително, противомикробно, противоязвено, адстрингентно, кръвоспиращо, уплътняващо капилярите, антидепресивно, кардиотонично, ранозаздравяващо. Целта на настоящото изследване е фитохимично проучване на надземни части от *Hypericum cerastioides* (Spach) N. Robson.

С помощта на ултра високоефективна течна хроматография с масова детекция при висока разрешаваща способност в метанолния екстракт от *H. cerastioides* бяха идентифицирани флавоноидите катехин, епикатехин, галокатехин, епигалокатехин, рутин, хиперозид, кверцитрин, изокверцитрин, мирицетин-3-О-глюкозид, мирицетин-3-О-галактозид, мирицетин-3-О-рутин, кемпферол, кверцетин, мирицетин и 3-І,8-ІІ-биапигенин; ксантоните мангиферин, изомангиферин и норатириол; депсиди на хинната киселина с кафеената, феруловата и р-хидроксикумаровата киселина; бензофеноновият О-глюкозид гарцимангозон D и др.

От етилацетатния екстракт на *H. cerastioides* бяха изолирани един нов ацетилиран бензофенонов О-гликозид и два известни компонента: метилов естер на хлорогеновата киселина и 5-р-кумароилхинна киселина.

Структурата на новото природно съединение беше установена с помощта на съвременни спектрални техники (УВ, ІН-, І3С-ЯМР, двумерен ЯМР експерименти, Масспектрометрия) като 4,6-дихидроксибензофенон-2-О-β-D-2"-ацетилглюкопиранозид и наименован с тривиалното име хиперцерастозид.

**КАЧЕСТВЕНО И КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ  
НА ЕТЕРИЧНО МАСЛО И ЕКСТРАКТИ ОТ КОРЕНИ  
НА КУЛТИВИРАН У НАС ВИД  
*VALERIANA OFFICINALIS SSP. COLLINA*  
ЧРЕЗ GC И GC/MS**

**ИНА АТАНАСОВА ИВАНОВА**

*Катедра „Фармакогнозия”*

***Научен ръководител: Доц. Н. Бенбасат***

Проведено е изследване върху химичния състав на култивирания у нас вид *Valeriana officinalis ssp. Collina*.

Посредством парна дестилация, екстракция с втечнени газове и различни по полярност разтворители са получени чисто етерично масло, конкрет, абсолю и различни по полярност екстракти, които са охарактеризирани качествено по съдържание на активни компоненти и количествено като добив.

Сравнителните качествени и количествени проучвания са направени чрез GS-MS изследване при автоматично интегриране на площите на газ хроматографските сигнали по метода на вътрешно нормиране. Идентичността на компонентите е установена чрез сравняване на техните индекси на задържане, сравняване с C9-C19 n-алкани и маспектри с данни за съответни референтни съединения, като концентрацията на отделните компоненти е изчислена по площта на пиковете, при използване на метода на нормализиране.

Установено е, че съдържанието на терпени в екстрактите, изолирани по различни методи силно се различава при отделните екстракти/чисто етерично масло.

Разработен е метод за получаване на абсолю, който максимално съчетава както добър добив, така и оптимален качествен и количествен състав.

# РАЗРАБОТВАНЕ И ВАЛИДИРАНЕ НА ВЕТХ МЕТОД ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ТОТАЛНИ ФЛАВОНОИДИ В ЕКСТРАКТ ОТ КОРАТА НА *ERYTHRINA LATISSIMA*

КОНСТАНТИН ТИХОМИРОВ ТАШКОВ

Катедра „Фармакогнозия”

Научни ръководители: проф. И. Йонкова, дфн

Prof. Dr. S. Apers

Растенията са известни като важни източници на биологично активни вещества, използвани за лечението на различни заболявания, като голям процент от видово разнообразие е концентрирано във флората на Африка. Фармакологичният потенциал на повечето представители на тази флора не е проучен, особено в южно-африканският регион, където има висока концентрация на лечебни растения. Поради тази причина бе предприета научна програма, която да проучи растителни видове, разпространени в южна Африка за анти-мутагенна активност, с цел подбиране на екстракти, способни да противодействат на мутагенните и токсични ефекти на микотоксини, в това число основно на афлатоксини. *Erythrina latissima* E. Mey (Leguminosae) е богат източник на различни пренилирани флавоноиди, на които се дължи антигенотоксичният и антимуtagenотоксичният й ефект. Цел на настоящото изследване е да се разработи и валидира метод за Високо Ефективна Течна Хроматография комбиниран с пълен обхват диоден ред спектрофотометрия (HPLC-DAD), определящ общите флавоноиди в кората на *E. latissima*.

Процедурата по подготвяне на пробите бе оптимизирана чрез експеримент проведен на няколко последователни етапа, като на всеки един от тях бе вариран и оценяван по един параметър. Прецизирани са условията за провеждане на екстракция, използвани разтворители, продължителност и условия на хроматографския анализ. Валидирането на аналитичния метод бе проведено по отношение на линейност, прецизност и точност спрямо тотални флавоноидни гликозиди и агликони. Рутин и нарингенин, достъпни аналози със сходно хроматографско поведение и подобен UV спектър на някой от основните компоненти в изследвания екстракт бяха използвани като стандарти. Двата стандарта са с чистота  $\geq 95\%$ . Калибриращата крива е линейна в обхвата от 2.02 до 364.32  $\mu\text{g/ml}$  за рутин и от 1.02 до 183,36  $\mu\text{g/ml}$  за нарингенин, с коефициент на корелация 0.9998 и 0.9996, респективно. Чрез експериментално оценяване за възвращаемост бе доказано, че методът е точен за агликони (100.3%), с относително стандартно отклонение на интра- и интердневна прецизност от 2.9% и 3.1%, респективно.

Методът е оценен като прецизен за определянето на негликозидирани флавоноиди в кората от *E. latissima*, спрямо направлението на ICH (International Committee for Harmonization) за хроматографски аналитични методи. Количествените анализи за гликозиди се нуждаят от допълнителни изследвания.

# INVESTIGATION OF *IN VITRO* CULTURES OF *ASTRAGALUS VESICARIUS* AND THEIR RADICAL BINDING ACTIVITY

MARIA KARATHANASI

*Department of Pharmacognocny*

***Scientific Supervisor: Prof. D Sci, PhD Iliana Ionkova***

*Astragalus* L. (*Leguminosae*) is a genus, which can be found in different places around the world and mainly in Europe, Asia and North America. Around 2000 species have been recorded. There are three main groups of pharmacologically active substances: polysaccharides, saponins and flavonoids (flavonols, flavones, isoflavones) in free and glycosidic forms.

Aim of this study was to determine the radical binding activity of the total extract from the Balkan endemic species *Astragalus vesicarius* var. *vesicarius*, obtained from intact plants and in vitro cultures. This thesis addresses the possibility of establishing “in vitro” cell cultures, investigation of radical binding activity of the total extract derived from intact plants and in vitro cultures using a free radical DPPH. The phytochemical study of the content of flavonoids in extracts from purified total intact plants and in vitro cultures was also examined in this thesis. The presence of isoquercitrin and apigenin was proved by HPLC examination.

We establish *in vitro* cultures and cultured a plant cell as single cells, in microcultural systems as calluses and suspensions, on petri-dishes and in Erlenmeyer flasks. Identification and quantification is through HPLC (High Performance Liquid Chromatography). The antioxidant potential of the different extracts from *A. vesicarius* was evaluated by DPPH-free radical scavenging method.

The results of the study indicate that *Astragalus vesicarius* var. *vesicarius* can serve as an alternative way of production of flavonoids. The assay for the radical-scavenging activity of total extracts, gained from different in vitro cultures, showed radical-scavenging activity in all the measured extracts. The highest activity is found from the extract gained from suspensions grown in media G48 with content of hormones (0.1mg/l 2,4-D, 0.2 mg/l IAA and 2mg/l Kinetin). The lowest measured value is from the extract gained from aerial parts grown on MS media. The presence of isoquercitrin and apigenin is proved in all the investigated extracts.

## ***Acknowledgements:***

Financial support from SMN, Medical University of Sofia, Bulgaria (No36/2016) is acknowledged.

# АЦИЛИРАНИ GOTCAB САПОНИНИ В КОРЕНИ НА КУЛТИВИРАНИ ВИДОВЕ ОТ РОД *GYPSOPHILA* L.

МИРЕНА СТОЯНОВА ЦЕНОВА

Катедра „Фармакогнозия”

Научен ръководител: Доц. Ренета Гевренова, дф

GOTCAB сапонините са 3, 28-бисдезмозиди на глюкурониди на тритерпените карбоксилни киселини от олеананов тип (**Glucuronide Oleanane type Triterpene Carboxylic Acid 3,28-Bidesmosides**). Видовете от род *Gypsophila* са известни със съдържанието на тази група сапонини. Сред най-перспективните фармакологични свойства на GOTCAB са цитотоксична и имуноадювантна активност, и синергичен ефект с антитуморни таргетни токсини.

Целта на дипломната теза е да се проучат ацилираните GOTCAB сапонини във водно-метанолни екстракти от корени на 7 вида от род *Gypsophila* (*Gypsophila scorzonrifolia*, *G. acutifolia*, *G. altissima*, *G. pacifica*, *G. paniculata*, *G. oldhamiana* и *G. zhegualensis*). Растенията са култивирани *in vivo* за период от 3 или 4 години в гр. Люблин, Полша.

Хроматографските профили на GOTCAB сапонините са получени чрез ултрависоко-ефективна течна хроматография (UHPLC) комбинирана с електроспрей йонизация – високоразделителна мас спектрометрия (ESI-HRMS). Предварителната структура на съединенията е определена въз основа на данните от MS в отрицателен режим, сравнение с референтни сапонини, изолирани от *G. trichotoma* и литературни данни.

Установени са GOTCAB сапонини със С-3 тризахаридна верига, съставена от пентоза, хексоза и хексозуронова киселина, и С-28 ацилирана тетра- или пентазахаридна естерна верига. Четири от тях съдържат С-28 естерна верига с 1 или 2 ацетилни остатъка, в два сапонина С-28 веригата е естерифицирана с метоксиканелена киселина, а в един съдържа ацетилен и метоксиканелен остатък. Шест от сапонините са производни на сапогенина гипсогенин, а един – на квилая/гипсогенинова киселина. Предложена е структура на С-3 и С-28 олигозахаридните вериги. Трябва да се отбележи, че всеки от анализиранияте сапонини е представен в LC-HRMS анализите от 5-10 изобари, които вероятно са двойки изомери. Хроматографските данни за площите на пиковете на изобарите на GOTCAB сапонините, регистрирани в LC-HRMS за всеки от изследваните видове *Gypsophila* са подложени на анализ на основните компоненти (PCA). Използвани са графики на баловете, които визуализират групирането на изследваните видове по състав. PCA показва клъстер от три вида: *G. paniculata*, *G. oldhamiana* и *G. zhegualensis*. В повечето случаи основните изобари или двойки изомери определят групирането на видовете.

# BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF ARYLNAPHTHALENE LIGNANS BY *IN VITRO* PLANT CELL CULTURES OF *LINUM NARBONENSE* L.

**MOUSKOIDOU VARVARA**

*Department of Pharmacognocoy*

*Scientific Supervisor: Prof. D Sci, PhD Iliana Ionkova*

Lignans are a large group of natural products, which show diverse biological effects. Lignans may serve as lead compounds for the development of new therapeutic agents with cytotoxic, antiangiogenic, antiviral, antileishmanial, antifungal, hypolipidemic, antiasthmatic and antiviral activity. Justicidin B may have significant clinical utility as a lead compound in the management of bone cancer and osteoclastogenesis, due to its cytotoxic and bone resorption inhibitory properties. Since there is a growing interest in justicidin B due to its various pharmacological effects, the sustainable biotechnological supply of this valuable lignan would be a feasible alternative.

The aims of this thesis are to improve production of justicidin B and related lignans in *in vitro* cultures of *Linum narbonense* L. and develop *in vitro* strategies for their production. We investigated the possibility of establishing *in vitro* conventional cell cultures and using HPLC examination and LC-MS to prove production of arylnaphtalene lignans. We cultured a plant cell, as single cells, in microcultural systems as calluses and suspensions in Erlenmeyer flasks.

As results, *L. narbonense* callus cultures in MS-Li (MS medium, with 3% sucrose and NAA 2 mg/L) and suspension culture in medium G48 (MS medium, with kinetin 2 mg/L, IAA 0.2 mg/L, 2,4-D 0.1 mg/L and casein 1g/L), that were cultivated in light regimen, produced Justicidin B, which we proved with HPLC analysis and LC-MS. We found Justicidin B also in the other samples (suspension and shoot cultures), but in trace. We investigated the growth index of callus, shoot and suspension cultures in three different cultures mediums. The best growth response was obtained in suspension cultures in G48 medium. The results of the study indicate that *in vitro* cultures from *Linum narbonense* L., exhibit the ability for production of Justicidin B.



# КАЧЕСТВЕН, КОЛИЧЕСТВЕН АНАЛИЗ И ОЦЕНКА НА АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНОСТ НА ЕКСТРАКТ И ЕТЕРИЧНО МАСЛО ОТ ПЛОДОВЕТЕ НА ЗВЕЗДОВИДЕН АНАСОН *ILLICIUM VERUM, SCHISANDRACEAE*

**ТОТКА ЛЪЧЕЗАРОВА ЧЕРНЕВА**

*Катедра „Фармакогнозия”*

**Научни ръководители: Доц. Н. Бенбасат**

**Проф. К. Йончева**

Плодовете на звездовидния анасон са познати със своите антимикуробни, антиоксидантни, карминативни, аналгетични и седативни свойства. В настоящото проучване бе изследван химичният състав и антиоксидантната активност на етанолен екстракт и етерично масло от култивиран звездовиден анасон *Illicium verum, Schisandraceae*.

Посредством парна дестилация и екстракция бе получено чисто етерично масло и етанолен екстракт, които са охарактеризирани качествено за съдържание на активни компоненти и количествено като добив. Съставът на маслото и екстракта бе проучен чрез газ-хроматографско – мас-спектрално изследване. Идентичността на компонентите бе установена чрез сравняване на техните индекси на задържане, както и чрез сравняване с данни от литературата, като концентрацията на отделните компоненти е изчислена по площта на пиковете, при използване на метода на нормализиране.

За определяне на антиоксидантната активност на екстракта и маслото бяха използвани три метода. Методите включват 2,2-дифенил – 1 – пикрил-хидразилхидрат (DPPH), 2,2'-азино-бис(3-етилбензотиазолин-6-сулфонова киселина) (ABTS) и желязо-индуцирана липидна пероксидация. Установено бе, че антиоксидантната активност на екстракта и маслото се различават значително. Резултатите показаха, че екстрактът притежава по-висока антиоксидантна активност от етеричното масло. Изчислената стойност за  $C_{50}$  на екстракта бе значително по-ниска и при трите метода на изследване, което е индикатор за по-високата му антиоксидантна активност.

В заключение, екстрактът и етеричното масло от *Illicium verum* могат да бъдат обект на допълнително проучване като съставки на дозирани лекарствени форми с антиоксидантна активност.

# INVESTIGATION OF *IN VITRO* CULTURES OF *ASTRAGALUS MONSPESSULANUS* L.

FOTINI-EVANGELIA PAPACHRISTODOULOU

*Department of Pharmacognocny*

***Scientific Supervisors: Prof. Iliana Krasteva, PhD***

***Prof. Iliana Ionkova, DSci***

Due to their complex structures saponins, polysaccharides and flavonoids are still most efficiently synthesized the plants. Variable quantities and qualities of the wild plant material, plants that need to grow several years before they are ready for harvesting (*Astragalus* roots) and over collecting of endangered species are just a few of the problems connected with the production of these natural substances. Therefore, cultured cells rather than plants are a possible alternative production method.

Our goal here is to establish of *in vitro* cell cultures from *Astragalus monspessulanus* and determine the content of flavonoids in extracts from purified total intact plants and *in vitro* cultures. Explants from several parts of large intact *A. monspessulanus* plants were used to form callus. Suspension cultures are established by transferring small pieces of callus to liquid medium which is subsequently placed on a gyratory shaker. In all cultures flavonoid quantity was determined by HPLC method. In suspension cultures rutin (0.004%), quercitrin (0.013%) and kaempferol-7-rhamnoside (0.033%) were found. In callus rutin (0.004%), naringenin (0.265%) and quercitrin (0.022%) were proved. In shoot cultures alcesefolioside (0.006%), rutin (0.007%), hesperetin (0.107%) and quercitrin (0.011%) were quantified. Rutin was proved in highest amount in shoot cultures on MS culture medium (0.007%). In callus cultures developed on G48 medium (MS with kinetin 2 mg/L, IAA 0.2 mg/L, 2,4-D 0.1 mg/L and casein 1 g/L) the highest quantity of quercitrin (0.022%) was found. In addition there were several different flavonoids characteristic for each *in vitro* culture, namely hesperetin (0.107%) in shoot cultures on MS culture medium, naringenin (0.265%) in callus cultures, and kaempferol-7-rhamnoside (0.033%) in suspension cultures, both developed on G48 medium.

The results of the study indicate *Astragalus monspessulanus in vitro* cultures can serve as an alternative way for production of flavonoids.

## ФЛАВОНОИДИ В *ASTRAGALUS MONSPESSULANUS* SUBSP. *ILLYRICUS*

ЯНА ГЕОРГИЕВА МАДОЛЕВА

Катедра „Фармакогнозия”

Научен ръководител: проф. И. Кръстева, дф

*Astragalus* L. е най-големият и космополитен род в семейство Fabaceae, обхващащ повече от 2500 таксона, 29 от които са разпространени в българската флора. От десетилетия редица видове се използват в народната медицина на много европейски и азиатски страни за лечение на нервни, стомашно-чревни и ендокринни заболявания, ревматизъм, артрит, нефрит, при състояния на полиурия, световъртеж и др. От вторичните метаболити най-широко разпространени във видовете *Astragalus* са флавоноидите и сапонините. При фармакологични изпитвания на флавоноиди е установено, че те проявяват антиоксидантно, кардиотонично, спазмолитично, антихипертензивно, противомикробно, противовирусно, антидиабетно, противотуморно и други действия.

В настоящето проучване от надземната част на *Astragalus monspessulanus* subsp. *illyricus* са изолирани два редки флавоноида, ацилирани с хидрокси-3-метилглутарова киселина в захарната верига. Структурата на веществата е определена чрез киселинна хидролиза, 1D и 2D NMR експерименти и HRESIMS като: кверцетин-3-*O*- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-[6-*O*-(3-хидрокси-3-метилглутарил)- $\beta$ -D-галактопиранозид] и кемпферол-3-*O*- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-[6-*O*-(3-хидрокси-3-метилглутарил)- $\beta$ -D-галактопиранозид]. При модел на *трет*-бутил хидропероксид (*t*-BuOOH) индуциран оксидативен стрес в изолирани плъщи хепатоцити флавоноидите проявяват статистически значим цитопротективен ефект, съизмерим с този на силимарин.



**КАТЕДРА  
“ТЕХНОЛОГИЯ НА ЛЕКАРСТВЕНИТЕ СРЕДСТВА И  
БИОФАРМАЦИЯ”**

# **ПРИГОТВЯНЕ И ОХАРАКТЕРИЗИРАНЕ НА ПОЛИМЕРНИ ХИТОЗАН-АЛГИНАТНИ НАНОЧАСТИЦИ НАТОВАРЕНИ С ДОКСОРУБИЦИН**

**АСЛИХАН ШЕНОЛ ИЛИЯЗ**

*Катедра "Технология на лекарствените средства и биофармация"*

*Фармацевтичен Факултет, Медицински Университет- София*

*Катедра "Фармацевтична технология"*

*Фармацевтичен Факултет, Университет на Навара, Памплона*

**Научни ръководители: Проф. д-р Красимира Йончева**

**Проф. М. Х. Гаридо**

Разработването на биоразградими наноразмерни лекарство-доставящи системи е сред актуалните направления във фармацевтичната технология, дължащо се основно на тяхната биосъвместимост и ниска токсичност. Полизахаридите, например хитозан и алгинат, са широко прилагани като носители поради техния природен произход, възможности за включване на разнообразни като свойства лекарствени вещества и редуцираната употреба на органични разтворители при микрокапсулирането.

Целта на настоящата дипломна работа бе да се приготвят и и охарактеризират полимерни хитозан-алгинатни наночастици натоварени с доксорубицин. Хитозан-алгинатните наночастици бяха приготвени по метода на йонотропно гелно енкапсулиране. Варирането на съотношението между доксорубицин и полимерната концентрация показва, че при увеличаване на началната концентрация на доксорубицин се повишава съществено степента на натоварване на лекарственото вещество в наночастиците. Установено бе, че размерът на наочастиците не се влияе от степента на натоварване на лекарственото вещество. Основен фактор, оказващ влияние върху размера на наночастиците, бе времето за третиране на дисперсиите с ултразвук. Изведени бяха оптимални условия за получаване наночастиците, водещи до постигане на среден диаметър по-малък от 300 nm и ниска полидисперсност. Изследването на процеса на освобождаване показва постигането на забавено освобождаване на доксорубицин в слабо кисела и неутрална среда. Установено бе, че освобождаването в слабо кисел буфер (pH=5.5) протича по-бързо в сравнение с това във фосфатен буфер (pH=7.4). Ин витро изпитванията върху клетъчна линия В16-OVA показаха по-силно изразен цитотоксичен ефект на свободен доксорубицин в сравнение с натоварения в наночастиците доксорубицин, което вероятно се дължи на забавеното освобождаване. Проведени са предварителни ин виво изпитвания, разкриващи терапевтичния потенциал на включения в наночастиците доксорубицин след интравенозно приложение на мишки.

# IMPROVING THE PALATABILITY OF CAFFEINE CITRATE USING AN ELECTRONIC TONGUE

**DIMITRIOS GEORGOPOULUS**

*Department Pharmaceutical technology and biopharmacy,  
Faculty of Pharmacy, Medical University of Sofia*

*Institute of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Heinrich-Heine-University Düsseldorf*

**Scientific supervisors: Prof. Milen Dimitrov, PhD**

**Prof. Joerg Breitzkreutz, PhD**

Caffeine citrate is an API which is included in the WHO List of Essential Medicines for Children. It is used for the treatment of apnea of prematurity which affects almost 90% of the neonates. Caffeine citrate is also very well known for its bitterness which is detected by the electronic tongue. Purpose of this investigation is to assess and improve the bitter taste of pure caffeine citrate using as guidance the electronic tongue (SA402B Insent Taste Sensing System). Taste masking of bitter caffeine citrate in a liquid formulation was carried out by incorporating natural sweeteners (Sucrose, Fructose, Sorbitol), complexing agents(Hp- $\beta$ -Cyclodextrin,  $\gamma$ -Cyclodextrin), methylacrylic acid polymer (Eudragit L 100-50) and finally high potency sweeteners(Ionic: Ace K, Saccharin Na, Cyclamate Na and non-ionic: Aspartame, Alitame, Thaumatin, NHDH, Sucrose, Glycyrrizin, Stevia).

The electronic tongue showed that the best reduction of bitterness and total change of taste, was accomplished with the ionic sweeteners. Moreover, as a conclusion, formulation of caffeine citrate and mixture of Ace K/ Aspartame, drastically improve the palatability of pure caffeine citrate. Additionally, strawberry flavor was added which was not detected by the electronic tongue. This is a rational stepwise development for taste masking a bitter medicine.

In conclusion, sugars, sugar alcohols and soluble complexing agents do not influence the signal response of caffeine citrate. Eudragit forms a precipitation, which can be later, be used for another taste masking method. Ionic artificial sweeteners can shift sensor signals dramatically. Improved taste formulation of caffeine citrate with mixture of ace k/ aspartame can drastically improve the palatability of pure API.

**Keywords:** Pediatric drugs, Apnea of prematurity, Electronic tongue, Bitter taste, Caffeine citrate

# **OPTIMIZATION APPROACHES ON EXTRACTION AND PREPARATION OF PHYTOMEDICINES FROM ZINGIBER OFFICINALE ROSCOE**

**KONSTANTINOS HADJIMIHALIS**

*Department Pharmaceutical technology and biopharmacy,  
Faculty of Pharmacy, Medical University of Sofia*

***Scientific supervisor: Prof. Milen Dimitrov, PhD***

The history of Ginger goes back over 5000 years when the Indians and ancient Chinese considered it a tonic root for all ailments. While Ginger originated in Southeast Asia, it has a long history of being cultivated in other countries. Ginger is used worldwide as a cooking spice, condiment and herbal remedy. In Traditional Chinese Medicine (TCM), ginger is considered a pungent, dry, warming, yang herb to be used for ailments triggered by cold, damp weather. Ginger is used extensively in Ayurveda, the traditional medicine of India, to block excessive clotting (i.e. heart disease), reduce cholesterol and fight arthritis. In Malaysia and Indonesia, ginger soup is given to new mothers for 30 days after their delivery to help warm them and to help them sweat out impurities.

The study comprises a preliminary stage during which the raw ginger rhizoma was processed in order to obtain intermediate product used further for preparation of extracts. The extracts were prepared with the utilization of three different extractants (ethanol 95%, ethanol 70% and dichloromethane) at different time for extraction and temperature.

Furthermore, part of the intermediate product (powder) was used to prepare extracts, with the above-mentioned extractants, with the support of ultrasound or microwave platform MicroSYNTH Plus for extraction.

HPLC analysis was conducted in HPLC apparatus Dionex Ultra-high-performance liquid chromatograph / multi-detector / laboratory UltiMate 3000 Semipreparative.

The results obtained revealed the influence of the drying temperature, extraction time, nature of the extractants and type of the dryer on the yield of 6-gingerol; 8-gingerol A; 8-gingerol B; 6-gingerdione; 10-gingerol and 6-shogaol extracted from dried, grinded ginger root.

Based on the collected and interpreted results the optimization approaches have been proposed as a conclusion.

# РАЗРАБОТВАНЕ НА ПОЛИМЕРНА МИЦЕЛНА СИСТЕМА С ВКЛЮЧВАНЕ НА СРЕБЪРНИ НАНОЧАСТИЦИ И ПАКЛИТАКСЕЛ

**ПОЛИНА ВИКТОРОВА ДЖОНОВА**

*Катедра "Технология на лекарствените средства с биофармация",  
Фармацевтичен Факултет, Медицински Университет-София*

*Институт по полимери, БАН*

*Катедра "Фармацевтична технология",*

*Фармацевтичен Факултет, Университет на Навара, Памплона*

**Научни ръководители: Проф. Красимира Йончева, дф**

**Проф. Петър Петров, дн**

**Проф. Х. М. Ираче**

Полимерните мицели са наноразмерни системи, изградени от амфибилни блокови съполимери при самоасоциация на хидрофилните и хидрофобните блокове във вода. Сред основните им предимства е способността за натоварване на хидрофобни лекарствени вещества, включвайки ги в мицелното ядро. Зарядът и повърхностните свойства на тези носители могат да бъдат променени чрез подходящо функционализиране, което дава възможност за рецептор-медиран транспорт и таргетно действие.

В настоящото изследване са проучени възможностите за натоварване на паклитаксел в полимерни мицели, изградени от триблоков съполимер - поли(етиленов окис)-блок-поли(п-бутилакрилат)-блок-поли(акрилова киселина) (PEO-PnBA-PAА). Дизайнът на изследването включваше и натоварване на активното вещество в мицели, съдържащи в короната си сребърни наночастици (Ag-PEO-PnBA-PAА). Натоварването на паклитаксел бе осъществено по метода на изпаряване на разтворителя, а като разтворител бяха използвани метанол, етанол, диоксан или ацетон. Най-висока ефективност на включване на паклитаксел бе наблюдавана при немодифицираните със сребърни наночастици мицели при използване на диоксан като органичен разтворител. Проведени бяха измервания на размера и разпределението по размер на двата типа натоварени с паклитаксел мицели в продължение на 90 дни. Както немодифицираните, така и модифицираните със сребърни наночастици мицели се характеризираха с висока физична стабилност, което избягва необходимостта от тяхното допълнително стабилизиране. Проведените *in vitro* тестове на разтваряне показаха забавено освобождаване на включения в мицелите паклитаксел. Изследванията относно цитотоксичността на ненатоварени и натоварени с паклитаксел мицели установиха липса на цитотоксичен на ненатоварените мицели и дозо-зависим ефект на натоварените. В заключение, проведените изпитвания очертах възможностите за натоварване на паклитаксел в мицели с висока физична стабилност и добър профил на безопасност.



# THE CAPILLARY RHEOMETER USED AS A PREDICTIVE TOOL FOR TWIN-SCREW EXTRUSION AND 3D PRINTING

**THOMAI KARAGIANNI**

*Department Pharmaceutical technology and biopharmacy,  
Faculty of Pharmacy, Medical University of Sofia*

*Institute of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Heinrich-Heine-University Düsseldorf*

**Scientific supervisors: Prof. Milen Dimitrov, PhD**

**Prof. Joerg Breitzkreutz, PhD**

**Julian Quodbach, PhD**

Hot-melt extrusion (HME) is a process that was firstly introduced at the 18<sup>th</sup> century and was mainly used for the manufacturing of lead pipes. Since then, it has been used in plastic, rubber and food industry. The HME technology has also proven to be useful in the field of pharmaceutical technology too. The polymers that are used for Hot-melt extrusion (HME) must exhibit some main characteristics in order for the process to be carried out in the most efficient way.

3-dimensional printing (3DP) technology in pharmaceutical industry, is a rather new approach to produce personalized medicine. 3D Printing has the potential to overcome problems related to formulation.

The aim of the present study was to produce non-commercially available filaments, with the correct properties, that could be used for the printing of a solid dosage form (e.g capsule, pill or tablet) in a 3D printer. The main objectives were connected with the study of possibility to use the capillary rheometer as a small-scale extruder. Furthermore, collect and analyze the data and try to apply them in the Twin-screw extruder. The next step is to compare the properties of commercially available filaments and the produced filaments from the capillary rheometer and producing filaments in the twin-screw extruder that can be used for 3D Printing. The possibilities for utilization of the capillary rheometer as a small-scale extruder were explored. The collected data were analyzed. They showed that due to the fact that the capillary rheometer uses the same principle as an extruder, it could be utilized as a small-scale extruder. It was tried to apply the analyzed data to the twin-screw extruder. The results obtained showed that the process of twin-screw extrusion is performed in more efficient way because some of the setting parameters were previously tested in the capillary rheometer. Non-commercially available filaments, with the correct properties, that could be used for printing a solid dosage form ( e.g capsule, pill or tablet) in a 3D Printer were produced. The non-commercially available filaments were first produced using the capillary rheometer. Evaluation of these filaments was performed and according to these results, the same mixture was used in the twin- screw extruder in order to produce a filament that later on could be loaded to the 3D Printer. The properties of the commercially available filaments and the produced filaments from the capillary rheometer were compared. The E-Moduli of the produced and the commercial filaments were compared. It showed that even though the produced filaments had lower E-Moduli from the already available commercial filaments, combining other methods for evaluation showed that it was possible to use one of produced filaments for 3D Printing. The produced filaments in the twin-screw extruder maybe used for 3D printing. The results obtained showed that the filament produced in the twin-screw extruded of consistency of Eudragit® E PO (96%) and stearic acid (4%) had the required properties that are needed for 3D Printing.



**КАТЕДРА  
“ОРГАНИЗАЦИЯ И ИКОНОМИКА НА  
ФАРМАЦИЯТА”**

# **ОЦЕНКА НА МНЕНИЕТО НА БЪЛГАРСКИТЕ ПАЦИЕНТИ ЗА НОВА ПРЕДУПРЕДИТЕЛНА СИСТЕМА ЗА ЛЕКАРСТВА, КОИТО МОГАТ ДА ПОВЛИЯТ СПОСОБНОСТТА ЗА ШОФИРАНЕ**

**ИВА ЛЮБОМИРОВА ЖЕЛЕЗОВА**

*Катедра „Организация и икономика на фармацията”*

*Научен ръководител: проф. Валентина Петкова, дфн*

Пътните инциденти водят до тежки увреждания и висока смъртност. Те представляват сериозен проблем пред здравеопазването на световно и национално ниво. Една от най-значимите причини за този сериозен проблем е шофирането под влиянието на алкохол, лекарства и/или наркотични вещества. От години е известно, че приемът на някои лекарства, повлияващи Централната нервна система, може да повлияе на способността за шофиране. Поради тази причина, през 2006 година, Европейският съюз финансира европейски проект, известен под акронима DRUID (Driving Under the Influence of Drugs, Alcohol and Medicines – Шофиране Под Влиянието на Наркотици, Алкохол или Лекарства). Една от целите на проекта DRUID е да установи реалната степен на влияние на психоактивните лекарства върху способността за шофиране и безопасността на пътя.

Цел на настоящото проучване е да се оцени мнението на българските пациенти за нова предупредителна система за лекарства, които могат да увредят способността за шофиране.

Задачите, които си поставя проучването е да се проучи оценката на пациентите за нивото на риск по време на шофиране, намерението за промяна в шофирането, що се отнася до вероятност за промяна и честота на шофиране; да се оцени влиянието, което тази предупредителна система би имала върху решението на пациентите дали да приемат своето лекарство, или не и дали да шофират, или не. Също така и да се сравнят резултатите, получени от българското проучване, с тези, получени в предварително проведено проучване в Холандия.

Чрез метода на пряката анкета са анкетирани 40 пациенти, употребяващи лекарства, които могат да повлияят способността за шофиране, в периода от 06.06-01.07.2016. За целта на проучването е разработен въпросник в три варианта, в съответствие с категоризацията на проекта DRUID на лекарствата, повлияващи шофирането. Анализът на резултатите е извършен чрез статистическата програма SPSS.

Резултатите от настоящото проучване сочат, че българските пациенти са запознати с потенциала на някои групи лекарства да повлияят способността за шофиране. Пиктограмите, които са част от новата предупредителна система, са ясни, разбираеми и информативни, особено тази с допълнителен текст встрани. По-голямата част от пациентите определят правилно нивото на риск в съответната категория, а процентът на правилните отговори се увеличава с добавянето на текст встрани от пиктограмата. За пациентите, употребяващи лекарство от категории II и III, е по-вероятно да променят намерението си да шофират. Отново пациентите, които са получили въпросник от категории II и III, са по-склонни да намалят честотата на шофиране по време на терапия с лекарство, повлияващо способността за шофиране. Пациентите, приемащи лекарство от категория III, преценяват, че пиктограмата би променила начина на употреба на лекарството, което приемат. Пациентите, употребяващи лекарство от категория II, биха променили начина на употреба на лекарството си след представянето на пиктограмата с допълнителен текст встрани.

# АНАЛИЗ НА РАЗХОДИТЕ ЗА ЛЕЧЕНИЕ НА ПСОРИАЗИСА КАТО СИСТЕМНО ЗАБОЛЯВАНЕ

**ХРИСТИНА АНГЕЛОВА БОДЕНСКА**

*Катедра „Организация и икономика на фармацията“*

**Научни ръководители: Проф. Генка Петрова, дфн**

**Гл.ас Мария Камушева, дф**

**Цел:** Целите на настоящата разработка са да се определи финансовата тежест на псориазиса и на коморбидните състояния, които го съпровождат, както и да се събере допълнителна информация за епидемиологията и за характеристиките на пациентите с псориазис в България.

**Материали и методи:** Проведено е ретроспективно проучване сред пациенти с псориазис в клиниката по кожни и венерически заболявания на МБАЛ „Александровска“ за периода 2014-2015. За изчисляване на разходите за лечение на заболяването е приложен методът „отдолу-нагоре“. За целите на обобщаване и представяне на данните е приложена дескриптивна статистика с помощта на MedCalc.

**Резултати:** Общият брой на включените в анализа пациенти е 247, от които 106 са били приети в клиниката през 2014, а 141 – през 2015г. И за двете години (2014 и 2015) сред пациентите с псориазис преобладават мъжете – 60,38% и 62,86%. Най-голям е дялът на болните във възрастовата група 61-70 години – около 26%, следвани от 51-60 години – около 20%. Фамилна обремененост се отчита при около 19% от пациентите, а рецидив – при около 81%. Средните едномесечни разходи за фармакотерапия на пациенти с псориазис в болнични условия за 2015 се повишават в сравнение с 2014 – около 35 лв. и 33 лв., съответно. Дялът на средните разходи за лекарствена терапия на съпътстващи заболявания се поделя почти поравно между НЗОК (20,53лв.) и пациентите (23,10 лв.), като пациентите заплащат повече. Болничните разходи са най-високи (480 лв.), следвани от индиректните средни месечни разходи (436,45лв.). Структурното разпределение на средните едномесечни разходи за 1 пациент е 58% директни (от тях 12% за амбулаторно лечение (лекарства и фототерапия) и 46% (лекарства, изследвания, медицински грижи) в болнични условия), 42% индиректни. С увеличаване на възрастта се увеличава и броят на коморбидните състояния сред пациентите с псориазис ( $p=0,0095$ ). Статистически значимо повече мъже ( $p=0,04$ ) страдат едновременно от псориазис и исхемична болест на сърцето.

**Заклучение:** Псориазисът е хронично заболяване, което е съпроводено с голям риск от развитие на коморбидни състояния, разходите за лечението на които съставляват значителна част от общите разходи. Българските пациенти с псориазис имат адекватен финансов и физически достъп до терапия.

# **ПРОУЧВАНЕ НА ИНФОРМИРАНОСТТА НА БЪЛГАРСКИТЕ ФАРМАЦЕВТИ ОТНОСНО ЛЕКАРСТВОТА, ПОВЛИЯВАЩИ СПОСОБНОСТТА ЗА ШОФИРАНЕ И ОТНОШЕНИЕТО ИМ КЪМ ОБОЗНАЧАВАНЕТО НА СТЕПЕНТА НА ВЛИЯНИЕ ВЪРХУ ОПАКОВКАТА НА ЛЕКАРСТВЕНИЯ ПРОДУКТ**

**ЯНИЦА ДИНКОВА ЦЪЦАРОВА**

*Катедра „Организация и икономика на фармацевцията”*

*Научен ръководител: проф. Валентина Петкова, дфн*

Увеличават се доказателствата за връзката между употребата на психоактивни лекарства като хипнотици, анксиолитици, опиати и антихистамини и повишения риск от пътни инциденти. През 2006 Европейската комисия основава пет годишен интегриран проект Шофиране под влиянието на наркотици, алкохол и лекарства (DRiving Under the Influence of Drugs, Alcohol and Medicines – DRUID). Те разработват лесно разбираеми предупредителни пиктограми за всяка категория.

Цел на настоящото проучване е да се проучи информираността на българските фармацевти относно лекарствата, повлияващи способността за шофиране, както и отношението им към обозначаването на степента на влияние върху опаковката на ЛП.

Задачите на проучването са да се оценят познанията на българските фармацевти за действителния ефект, който лекарствата могат да окажат върху безопасността на пътя, както и да се оцени отношението им към поставянето на два типа предупредителни пиктограми върху опаковките на лекарствата, повлияващи способността за шофиране. Освен това, проучването си поставя за задача да сравни резултатите от анкетно проучване, проведено в България и данните от предишни проучвания, проведени в Холандия.

Използван е анкетен метод, като е проведена онлайн анкета сред български фармацевти. На участниците са дадени три седмици да попълнят въпросника, като на втората седмица са получили писмо за напомняне. След края на дадения период резултатите са анализирани със статистическите програми SPSS и MedCalc.

Нивото на отговор е 29% - 75 отговора от 257 изпратени покани. При сравнението на резултатите от българското проучване с тези от предишни холандски проучвания се открива значителна разлика при фактическите познания на фармацевтите – почти 70% от холандските фармацевти са оценили правилно всички шест дадени им твърдения, докато по-малко от 30% от българските фармацевти са направили същото.



**КАТЕДРА  
“ФАРМАЦЕВТИЧНА ХИМИЯ”**

# СИНТЕЗ, ОХАРАКТЕРИЗИРАНЕ, ХИМИЧНИ И ФАРМАКОЛОГИЧНИ СВОЙСТВА НА ПРОИЗВОДНИ НА КОФЕИН-8- $\alpha$ -МЕТИЛ ТИОГЛИКОЛОВАТА КИСЕЛИНА

**АНЖЕЛО РОСЕЛОВ ПАВЛОВ**

*Катедра „Фармацевтична химия“*

*Научен ръководител: гл.ас. Явор Митков, дф*

Получаването на кофеин-8- $\alpha$ -метил тиогликолова киселина се основава на бромиране на кофеин до 8-бромокофеин и последващо взаимодействие с динатриева сол на 2-меркаптопропанова киселина. Полученото съединение се използва като изходен продукт за получаване на негови естерни и хидразидни производни.

Синтезирани са 4 естерни и 14 хидразидни производни на кофеин-8- $\alpha$ -метил тиогликоловата киселина, структурите на новополучените съединения са доказани чрез IR, UV,  $^1\text{H NMR}$  и LC-MS изследвания.

За теоретична оценка на фармакокинетичното поведение и лекарствено подобие на новополучените съединения с помощта на Web-базиран сървър Molinspiration Cheminformatics бяха изчислени стойностите на Mw, logP, nOHNH, nON, n-rotab, TPSA и %ABS за всяко съединение. Установихме, че продуктите отговарят на граничните условия на Липински, което ги прави подходящи за бъдещи оптимизации.

Получени са количества от новосинтезираните съединения за фармакологични изследвания. Към настоящия момент е установена MAO инхибираща активност.

# ОЦЕНКА НА ХИМИЧЕСКАТА СТАБИЛНОСТ И БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ НА АНТИМИКРОБНИ ПЕПТИДИ ТИП ALFA-DEFENSIN 2

**МЕРИ НАСКОВА АМЕРИКОВА**

*Катедра „Фармацевтична химия”*

*Научни ръководители: Доцент Иванка Пенчева, дф*

*Чл. Кор. Проф. Христо Найденски, двн*

През последните 20 години в борбата с бързо разширяващата се резистентност на патогенните бактерии спрямо клинично използваните антибиотици и химиотерапевтици, все по-голямо внимание се обръща на специфични активни съединения - антимикробни пептиди (АМП) от типа на алфа-дефензините. АМП притежават антимикробно, антимикотично, противовирусно, а за някои и противотуморно действие. Те имат широк антибактериален профил и са активни, както към грам-положителни, така и към грам-отрицателни бактерии, вкл. патогени, резистентни на химиотерапевтици и антибиотици. Паралелно с техните предимства, съществуват редица усложнения, които забяват клиничното им приложение. Като едно от най-съществените се посочва модулирането на биологичното им действие или деактивирането им под действието на редица фактори – рН на средата, наличие на ензими, неспецифично фармакокинетично разпределение във всички тъкани на макроорганизма след въвеждане и др.

В настоящата дипломна работа са разработени високо ефективно течнохроматографски тестове за изследване на химическа стабилност на alfa-defensin 2 при различни, биологично съобразени рН – 2, 7.4 и 8 рН единици. Аналитичната процедура е валидирана чрез определяне на аналитични и хроматографски параметри, както и тест за надежност на системата.

Определена е минимална инхибираща концентрация на на alfa-defensin 2 върху тестови щамове на патогенни Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии. За целта е използван стандартизиран метод на титруване в микроплаки. Бактериалният растеж бе отчетен визуално по стандарт и спектрофотометрично на скенер за микроплаки (ELISAReader) след добавяне на тетразолова сол (INT в органичен разтворител) при дължина на вълната 490 nm. Установена беше корелация между активността и стабилността на тествания протеин в зависимост от рН на буфера, използван като разтворител.



# МЕТОДИ ЗА АНАЛИЗ НА ФЛУОРИРАНИ ХИНОЛОНИ В СМЕСИ С НИТРОИМИДАЗОЛОВИ АНТИБАКТЕРИАЛНИ ЛЕКАРСТВА

**НЕЛИНА МИХАЙЛОВА КЕРИНА**

*Катедра „Фармацевтична химия“*

*Научни ръководители: Доц. Лили Пейкова, дф*

*Доц. Ваня Масларска, дф*

Две от най-типичните хронични възпалителни чревни заболявания (ХВЧЗ) са болестта на Крон и улцерозният колит. Често срещани са дивертикулозата и усложненията след поставяне на анус претер. В България диагностицираните пациенти с болестта на Крон са над 700, а с улцерозен колит над 1800. Хроничните симптоми често оказват значително емоционално въздействие върху деца и младежи. За щастие, при голяма част от пациентите преодоляването на тези и други неразположения в ежедневиия живот е напълно възможно с помощта на адекватна, модерна и достъпна медикаментозна терапия. Съществено място в лечението на ХВЧЗ заемат представителите от групата на флуорираните хинолони и нитроимидазоловите производни – самостоятелно и най-вече в комбинация. Във връзка с това, от съществена важност е проучването и разработването на надежни аналитични методи за определяне на посочените антибактериални лекарства, както самостоятелно така и в смеси. Обект на нашата работа са Ciprofloxacin, Ofloxacin, Metronidazole и Tinidazole. Разработена е течнохроматографска аналитична процедура, включваща тест за идентичност, чистота и количествено съдържание на комбинирани лекарствени форми, метода е валидиран съгласно Европейска фармакопея и ICH. Идентичността е определена чрез ИЧ спектри на чисти субстанции (Ciprofloxacin, Ofloxacin, Metronidazole и Tinidazole), както и УВ спектрофотометрия.



**КАТЕДРА “ХИМИЯ”**

# СИНТЕЗ И ОХАРАКТЕРИЗИРАНЕ НА 5-МЕТОКСИ-САЛИЦИЛАЛДЕХИД ИЗОНИКОТИНОИЛХИДРАЗОН

ГАБРИЕЛА МИТЕВ

Катедра „Химия”

Научен ръководител: Гл. ас. Боряна Николова-Младенова, дх

Ароилхидразоните от типа  $R'-CH=N-NH-CO-R$  образуват голям клас съединения, които проявяват противовъзпалителна, обезболяваща, антитуморна, антиконвулсивна, анти-HIV, антитуберкулозна и антимикробна активност. Особен интерес представляват хидразоните, получени при кондензацията на 3-, 4- и 5-заместени ароматни алдехиди и лекарствения препарат изоникотиноилхидразид (изониазид), поради високата им биологична активност. Хидразони, получени от 3- и 4-метоксисалицилалдехид проявяват изключително висока активност при инхибирането на растежа на голям брой туморни клетъчни линии и показват антипролиферативна активност, сравнима или по-висока от тази на Cisplatin.

Настоящото изследване представя синтеза и охарактеризирането на нов хидразон 5-метоксисалицилалдехид изоникотиноилхидразон (5mSIH), получен чрез кондензация на 5-метоксисалицилалдехид и изоникотиноилхидразид в етанол. Измерена е температурата на топене на новия хидразон. Процентното съдържание на химичните елементи е определено чрез елементарен анализ и е установена брутната формула  $C_{14}H_{13}N_3O_3$ . Структурата на съединението е определена чрез ИЧ,  $^1H$ -ЯМР и  $^{13}C$ -ЯМР спектроскопия.

Антипролиферативната активност на новосинтезирания хидразон е изследвана *in vitro* върху туморната клетъчна линия MCF-7. Цитотоксичността е оценена чрез МТТ-тест за определяне на клетъчната виталност и са изчислени  $IC_{50}$  стойностите. Установено е, че новият хидразон проявява концентрационно зависима цитотоксична активност върху изследваните клетки. Получените  $IC_{50}$  стойности показват, че 5mSIH е по-активен от цисплатината и много по-активен от другия използван референтен цитостатик – мелфалан.

Изследванията са по договор № 49 / 2016 към СМН на МУ-София

# СИНТЕЗ НА НЯКОИ НОВИ 3-МЕТИЛ-5,5-ДИЗАМЕСТЕНИ ХИДАНТОИНИ

ДИАНА ДИМИТРОВА

*Катедра „Химия“*

*Научен ръководител: доц. д-р Росен Буюклиев*

От литературни данни е известно, че 5,5-дизаместените хидантоини притежават антиковулсивни, антипиретични, антибактериални свойства. Металните комплекси на тези хидантоини с платина и паладий притежават антитуморни свойства, като активността на някои се доближава до тази на лекарственият препарат цис-платина. Ако в положение 3 на хидантоиновия пръстен се въведе алкилов остатък, това като цяло ще засили липофилността на съединението. Нашите очаквания са за формиране на по-липофилни метални комплекси при използване на 3-алкил-5,5-дизаместени хидантоини. Липофилността гарантира по-добро преминаване през клетъчните мембрани. С помощта на диметилсулфат в алкална среда беше извършена реакция на метилиране и бяха получени следните нови съединения: 3'-метил-4-тио-1Н-тетрахидропиран спиро-5'-хидантоин и 3'-метил-5-бензил-5-метилхидантоин. Беше определено реакционното време за получаване на оптимални добиви на продуктите. Структурите на ново синтезираните 3-метил-5,5-дизаместени хидантоини бяха доказани чрез елементарен анализ, ИЧ,  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектри.

Предстои изследването на новосинтезираните хидантоини за антитуморна активност. В ход е и получаването на нови платинови и паладиеви комплекси на тези съединения, като ще бъдат направени и DFT изчисления за тяхната стабилност, както и фармакологичното им изследване за антитуморна активност.

# ПОЛУЧАВАНЕ, ОХАРАКТЕРИЗИРАНЕ И ЦИТОТОКСИЧНА АКТИВНОСТ НА НОВ КОМПЛЕКС НА Pt(IV) С 3'-АМИНО-4-ТИО-1Н-ТЕТРАХИДРОПИРАНСПИРО-5'-ХИДАНТОИН

ПЕТЪР ИВАЙЛОВ АРНАУДОВ

Катедра „Химия“

Научен ръководител: доц. Адриана Бакалова, дх

В последните години изследванията на учените от цял свят са насочени към синтезиране на нови комплекси на Pt(IV) с обща формула  $[PtL_2Cl_4]$ , където L е бидентатен или два монодентатни amino лиганди. Два от хлоридните йони са разположени екваториално, а другите два - аксиално. Изследванията показват, че тези комплекси проявяват цитотоксична активност. Отчитайки механизма на действие на комплексите на Pt(IV) е възприето, че те действат като prodrugs след редукция до техните активни комплекси на Pt(II).

Новият комплекс на Pt(IV) е получен при взаимодействие на  $Na_2[PtCl_6]$  с 3'-амино-4-тио-1Н-тетрахидропиранспиро-5'-хидантоин (L) в молно отношение 1:2. За доказване на химичната формула на съединението и начинът на свързване на лиганда с метала са използвани следните методи за анализ – точка на топене, елементарен анализ, ИЧ,  $^1H$ ,  $^{13}C$  ЯМР спектрални методи. На базата на получените резултати е установено, че органичното съединение, използвано като лиганд в комплекса, координира с платината чрез серния атом от тиоциклохексановия пръстен, по подобие на комплекса на Pt(II) със същия лиганд. Химичната формула на съединението е *cis*- $[PtL_2Cl_4]$ .

Новият комплекс е изследван за цитотоксична активност *in vitro* върху няколко човешки туморни клетъчни линии от различен произход. Изследванията показват, че новият комплекс проявява концентрационно-зависима антипролиферативна активност върху използваните клетъчни линии. Стойностите на  $IC_{50}$  са сравнени с тези на чистия лиганд, комплекса на Pt(II) и референта cisplatin.

# СИНТЕЗ И ИЗСЛЕДВАНЕ НА НОВ КОМПЛЕКС НА Pt(II) С 3'-АМИНО-4-ТИО-1Н-ТЕТРАГИДРОПИРАНСПИРО-5'- ХИДАНТОИН

ЯНИЦА АНТОНОВА РУСЕНОВА

Катедра „Химия“

Научен ръководител: доц. Адриана Бакалова, дх

Цитотоксичната активност на комплексите на Pt(II) зависи от природата на носещите и напускащите лиганди. За да проявяват комплексите на Pt(II) противотуморна активност те трябва да имат *cis*-конфигурация и обща формула  $cis-[PtX_2A_2]$ , където X е Cl<sup>-</sup>, а A е инертен аминоклиранд.

Синтезиран е нов комплекс на Pt(II) с 3'-амино-4-тио-1Н-тетрахириранспиро-5'-хидантоин (L), който се използва като носещ лиганд. Взаимодействието се осъществява между K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub> и органичния лиганд в молно отношение 1:2. Полученият комплекс е охарактеризиран в твърдо състояние чрез точка на топене, елементарен анализ и ИЧ-спектрален метод и в течно състояние чрез <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C ЯМР спектри. Анализите доказват молекулярна формула  $cis-[PtL_2Cl_2]$  и свързване на лиганда с метала-комплексобразувател чрез серния атом от тиоциклохексановия пръстен.

Новото комплексно съединение е изследвано за цитотоксичност *in vitro* върху няколко човешки туморни клетъчни линии от различен произход. Изследванията показват, че новият комплекс проявява концентрационно-зависима антипролиферативна активност върху използваните клетъчни линии.