

СПРАВКА С РЕЗЮМЕТА

На научните публикации на гл. ас. д-р Христина Димитрова,
представени за участие в конкурс за академична длъжност „Доцент”

Ruseva, Nina, Mariyana Atanasova, Hristina Sbirikova-Dimitrova, Ana Marković, Žaklina Šmelcerović, Andrija Šmelcerović, Emiliya Cherneva, and Adriana Bakalova. "Chloro-substituted pyridine squaramates as new DNase I inhibitors: Synthesis, structural characterization, in vitro evaluation and molecular docking studies." *Chemico-Biological Interactions*, 2023

Abstract

Having continued our recent study on the synthesis and DNase I inhibition of several monosquaramides, two new chloro-substituted pyridine squaramates were synthesized and their structure was identified by X-ray. Their inhibitory properties towards deoxyribonuclease I (DNase I) and xanthine oxidase (XO) were evaluated *in vitro*. 3-(((6-Chloropyridin-3-yl)methyl)amino)-4-ethoxycyclobut-3-ene-1,2-dione (compound **3a**) inhibited DNase I with an IC₅₀ value of 43.82 ± 6.51 μM, thus standing out as one of the most potent small organic DNase I inhibitors tested to date. No cytotoxicity to human tumor cell lines (HL-60, MDA-MB-231 and MCF-7) was observed for the tested compounds. In order to investigate the drug-likeness of the squaramates, the ADME profile and pharmacokinetic properties were evaluated. Molecular docking was performed to reveal the binding mode of the studied compounds on DNase I.

Резюме

Като втори етап на нашето проучване върху синтеза и инхибирането на DNase I от няколко моноскуварамиди, бяха синтезирани два нови хлор-модифицирани пиридин скварамиди и тяхната структура беше уточнена на базата на монокристален рентгеноструктурен анализ. Техните инхибиторни свойства спрямо дезоксирибонуклеаза I (DNase I) и ксантин оксидаза (ХО) бяха оценени *in vitro*. 3-(((6-Хлоропиридин-3-ил)метил)амино)-4-етоксициклобут-3-ен-1,2-дион (съединение 3a) инхибира DNase I с IC₅₀ стойност от 43,82±6,51 μM, като по този начин стои като един от най-мощните малки органични инхибитори на DNase I, тествани до момента. Не е наблюдавана цитотоксичност за човешки туморни клетъчни линии (HL-60, MDA-MB-231 и MCF-7) за тестваните съединения. За да се изследват скварамидите като лекарство, бяха оценени ADME профилът и фармакокинетичните свойства. Извършен е молекулярен докинг (компютърно генериран модел на взаимодействие), за да се установи какъв е начинът на свързване на изследваните съединения върху DNase I.

Vetsislav Dulgerov, Hristina Sbirikova-Dimitrova, Kostadin Iliev, Boris Shivachev. The Co-Crystallization of 4-Halophenylboronic Acid with Aciclovir, Caffeine, Nitrofurazone, Theophylline, and Proline in Function of Weak Interactions. Crystals, 2023

Abstract

Co-crystallization experiments of 4-halophenylboronic acid with several pharmaceutical compounds (including aciclovir, caffeine, nitrofurazone, and proline) produced several new molecular complexes. The experiments involved varying the solvent and the molar ratio of boronic acid to a pharmaceutical compound (e.g., 1:1, 2:1, 1:2). The screening process for new crystal phases revealed that the formation of the different molecular complexes was strongly influenced by the molar ratio and the presence or absence of water in the solvent. The new molecular crystals were characterized through single crystal X-ray diffraction and differential scanning calorimetry (DSC) analyses. The single crystal analyses of the molecular complexes revealed an unexpected variety in the hydrogen bonding network interactions that can be produced by the $-B(OH)_2$ motif.

Резюме

Експериментите за съкристализация на 4-халофенилборна киселина с няколко фармацевтични съединения (включително ацикловир, кофеин, нитрофуразон и пролин) произведоха няколко нови молекулни комплекса. Експериментите включват промяна на разтворителя и моларното съотношение на бороната киселина към фармацевтично съединение (напр. 1:1, 2:1, 1:2). Процесът на скрининг за нови кристални фази разкрива, че образуването на различните молекулни комплекси е силно повлияно от моларното съотношение и наличието или отсъствието на вода в разтворителя. Новите кристали бяха характеризирани чрез монокристална рентгенова дифракция и диференциално сканираща калориметрия (DSC). Монокристалните анализи на новите комплекси разкриха неочаквано разнообразие във взаимодействията на мрежата от водородни връзки, които могат да бъдат произведени от $-B(OH)_2$ мотива.

Nina Ruseva, Hristina Sbirikova-Dimitrova, Mariyana Atanasova, Ana Markovic, Zaklina Smelcerovic, Adriana Bakalova, Emiliya Cherneva. Synthesis and DNase I Inhibitory Properties of New Squaramides. Molecules, NDPI, 2023

Abstract

Three new monosquaramides (**3a–c**) were synthesized, characterized by IR, NMR and X-ray, and evaluated for inhibitory activity against deoxyribonuclease I (DNase I) and xanthine oxidase (XO) in vitro. The target compounds inhibited DNase I with IC_{50} values below 100 μM , being at the same time more potent DNase I inhibitors than crystal violet, used as a positive control. 3-Ethoxy-4-((1-(pyridin-3-yl)propan-2-yl)amino)cyclobut-3-ene-1,2-dione (**3c**) stood out as the most potent compound, exhibiting a slightly better IC_{50} value ($48.04 \pm 7.98 \mu M$) compared to the other two compounds. In order to analyze

potential binding sites for the studied compounds with DNase I, a molecular docking study was performed. Compounds **3a–c** are among the most potent small organic DNase I inhibitors tested to date.

Резюме

Бяха синтезирани три нови монокварамида (**3a–c**), характеризирани с IR, NMR и рентгеноструктурен анализ и оценени за инхибиторна активност срещу дезоксирибонуклеаза I (DNase I) и ксантин оксидаза (ХО) *in vitro*. Целевите съединения инхибират DNase I със стойности на IC₅₀ под 100 µM, като в същото време са по-мощни инхибитори на DNase I от кристал виолет, използвано като положителна контрола. 3-Ethoxy-4-((1-(pyridin-3-yl)propan-2-yl)amino)cyclobut-3-ene-1,2-dione (**3c**) се откроява като най-мощно съединение, проявявайки леко по-добра стойност на IC₅₀ (48,04 ± 7,98 µM) в сравнение с другите две съединения. За да се анализират потенциалните места на свързване за изследваните съединения с DNase I, беше проведено изследване за молекулярен докинг. Съединения **3a–c** са сред най-мощните малки органични инхибитори на DNase I, тествани до момента.

Sbirkova-Dimitrova, H., Rusew, R., Kuvandjiev, N., Heroux, A., Doukov, Tz., Shivachev, B.. Structural Characterization of Alzheimer DNA Promoter Sequences from the Amyloid Precursor Gene in the Presence of Thioflavin T and Analogs. Crystals, 12, 12, MDPI, 2022

Abstract

Understanding DNA–ligand binding interactions requires ligand screening, crystallization, and structure determination. In order to obtain insights into the amyloid peptide precursor (APP) gene–Thioflavin T (ThT) interaction, single crystals of two DNA sequences 5'-GCCACCACGGC-3' (PDB 8ASK) and d(CGGGGTACCCCGG)₂ (PDB 8ASH) were grown in the presence of ThT or its analogue 2-((4-(dimethylamino)benzylidene)amino)-3,6-dimethylbenzo[d]thiazol-3-ium iodide (XRB). Both structures were solved by molecular replacement. In the case of 8ASK, the space group was *H3* with unit cell dimensions of $a = b = 64.49 \text{ \AA}$, $c = 46.19 \text{ \AA}$. Phases were obtained using a model generated by X3DNA. The novel 12-base-pair B-DNA structure did not have extra density for the ThT ligand. The 14-base-pair A-DNA structure with bound ThT analog XRB was isomorphous with previously the obtained apo-DNA structure 5WV7 (space group was *P4₁2₁2* with unit cell dimensions $a = b = 41.76 \text{ \AA}$, $c = 88.96 \text{ \AA}$). Binding of XRB to DNA slightly changes the DNA's buckle parameters at the CpG regions. Comparison of the two conformations of the XRB molecule: alone and bound to DNA indicates that the binding results from the freedom of rotation of the two aromatic rings.

Резюме

Определянето на взаимодействията на свързване на ДНК-лиганд изисква скрининг, кристализация и структурно определяне. За да се получи информация за взаимодействието между гена на прекурсора на амилоидния пептид (APP) и Тиофлавин Т (ThT), монокристали от две ДНК последователности 5'-GCCACCACGGC-3' (PDB 8ASK) и d(CGGGGTACCCCGG)₂ (PDB 8ASH) бяха

израснати в присъствието на ThT или неговия аналог 2-((4-(dimethylamino)benzylidene)amino)-3,6-dimethylbenzo[d]thiazol-3-ium iodide (XRB). И двете структури бяха решени чрез молекулно заместване. В случая на 8ASK пространствената група беше H3 с размери на елементарната клетка $a = b = 64,49 \text{ \AA}$, $c = 46,19 \text{ \AA}$. Фазите са получени с помощта на модел, генериран от X3DNA. В новата B-DNA структура от 12 базови двойки не се наблюдава допълнителна електронна плътност за ThT лиганда. Структурата на 14-базова A-DNA със свързан аналог XRB е изоморфна с получената преди това ДНК структура 5WV7 (пространствена група е P4₁2₁2 с размери на елементарната клетка $a = b = 41.76 \text{ \AA}$, $c = 88.96 \text{ \AA}$). Свързването на XRB с ДНК леко променя параметрите на ДНК в CpG регионите. Сравнението на двете конформации на молекулата XRB: самостоятелно и свързано с ДНК показва, че свързването е резултат от свободата на въртене на двата ароматни пръстена.

*Chayrov, R., Kalfin, R., Lazarova, M., Tancheva, L., **Sbirikova-Dimitrova, Hr.**, Shivachev, B., Stankova, Iv.. Development of N,N-Dimethylglycine-Amantadine for Adjunctive Dopaminergic Application: Synthesis, Structure and Biological Activity. Crystals, 12, 9, MDPI, 2022*

Abstract

N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor blockade can improve L-DOPA (l-3,4-dihydroxyphenylalanine)-induced dyskinesias in Parkinson's disease (PD) patients. Amantadine is a well-tolerated and effective antiparkinsonian agent, recently found to possess NMDA antagonistic properties. Oxidative damage may contribute to dopaminergic (DAergic) neurodegeneration in the substantia nigra of patients with PD. N,N-dimethylglycine (DMG) (also known as vitamin B15 or pangamic acid) acts as an antioxidant, extending the lifespan of animal cells through protection from oxidation. In this study, we synthesized and tested in vivo the newly obtained compound N,N-dimethylglycine-amantadine (DMG-Am) for antiparkinsonian activity. MPTP (1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine) is a widely used neurotoxin to induce an experimental model which mimics Parkinson disease-like symptoms. The neuroprotective capacity of the new amantadine derivative DMG-Am was evaluated by its potential to ameliorate the neuromuscular coordination and behavioral changes worsened by the toxin. Our experimental results showed that DMG-Am applied for 12 consecutive days, 5 days simultaneously and 7 days after MPTP, restored motor and memory performance of the animals to the control level, indication of beneficial protective effect of this compound. In summary, our results reveal the potential of newly synthesized DMG-Am as promising antiparkinsonian agent.

Резюме

Рецепторното блокиране на N-метил-D-аспартат (NMDA) може да подобри предизвиканите от L-DOPA (1-3,4-дихидроксифенилаланин) дискинезии при пациенти с болестта на Паркинсон (PD). Амантадин е добре поносимо и ефективно антипаркинсоново средство, за което наскоро беше установено, че притежава NMDA антагонистични свойства. Оксидативното увреждане може да допринесе за допаминергична (DAergic) невродегенерация в substantia nigra на пациенти с PD. N,N-диметилглицин (DMG) (известен също като витамин B15 или пангамова киселина) действа като антиоксидант, удължавайки живота на животинските клетки чрез защита от окисление. В това

проучване ние синтезирахме и тествахме *in vivo* ново полученото съединение N,N-диметилглицин-амантадин (DMG-Am) за антипаркинсонова активност. MPTP (1-метил-4-фенил-1, 2, 3, 6-тетрахиdropиридин) е широко използван невротоксин за индуциране на експериментален модел, който имитира подобни на болестта на Паркинсон симптоми. Невропротективният капацитет на новото производно на амантадин DMG-Am беше оценен чрез потенциала му да подобри нервно-мускулната координация и промените в поведението, влошени от токсина. Нашите експериментални резултати показаха, че DMG-Am, прилаган в продължение на 12 последователни дни, 5 дни едновременно и 7 дни след MPTP, възстановява двигателната и паметта на животните до контролното ниво, индикация за благоприятен защитен ефект на това съединение. В обобщение, нашите резултати разкриват потенциала на новосинтезирания DMG-Am като обещаващ антипаркинсонов агент.

Chochkova, M., Rusew, R., Kalfin, R., Tancheva, L., Lazarova, M., Sbirkova-Dimitrova, H., Popatanasov, A., Tasheva, K., Shivachev, B., Petek, N., Štícha, M.. Synthesis, Molecular Docking, and Neuroprotective Effect of 2-Methylcinnamic Acid Amide in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)—An Induced Parkinson's Disease Model. Crystals, 12, 11, MDPI, 2022

Abstract

Parkinson's disease (PD) has emerged as the second most common form of human neurodegenerative disorders. However, due to the severe side effects of the current antiparkinsonian drugs, the design of novel and safe compounds is a hot topic amongst the medicinal chemistry community. Herein, a convenient peptide method, TBTU (O-(benzotriazole-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium tetrafluoroborate), was used for the synthesis of the amide (*E*)-*N*-(2-methylcinnamoyl)-amantadine (CA(2-Me)-Am; 3)) derived from amantadine and 2-methylcinnamic acid. The obtained hybrid was studied for its antiparkinsonian activity in an experimental model of PD induced by MPTP. Mice (C57BL/6,male, 8 weeks old) were divided into four groups as follows: (1) the control, treated with normal saline (i.p.) for 12 consecutive days; (2) MPTP (30 mg/kg/day, i.p.), applied daily for 5 consecutive days; (3) MPTP + CA(2-Me)-Am, applied for 12 consecutive days, 5 days simultaneously with MPTP and 7 days after MPTP; (4) CA(2-Me)-Am +oleanoic acid (OA), applied daily for 12 consecutive days. Neurobehavioral parameters in all experimental groups of mice were evaluated by rotarod test and passive avoidance test. Our experimental data showed that CA(2-Me)-Am in parkinsonian mice significantly restored memory performance, while neuromuscular coordination approached the control level, indicating the ameliorating effects of the new compound. In conclusion, the newly synthesized hybrid might be a promising agent for treating motor disturbances and cognitive impairment in experimental PD.

Резюме

Болестта на Паркинсон (PD) се очертава като втората най-често срещана форма на човешки невродегенеративни разстройства. Въпреки това, поради тежките странични ефекти на настоящите антипаркинсонови лекарства, дизайнът на нови и безопасни съединения е гореща

тема сред общността на медицинската химия. Тук е използван удобен пептиден метод, TBTU (О-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурониев тетрафлуороборат), за синтеза на амида (Е)-N-(2-метилцинамоил)-амантадин (CA(2-Me)-Am; 3)), получен от амантадин и 2-метилканелена киселина. Полученият хибрид е изследван за неговата антипаркинсонова активност в експериментален модел на PD, индуциран от МРТР. Мишки (C57BL/6, мъжки, на възраст 8 седмици) бяха разделени на четири групи, както следва: (1) контролата, лекувана с нормален физиологичен разтвор (i.p.) в продължение на 12 последователни дни; (2) МРТР (30 mg/kg/ден, i.p.), прилаган ежедневно в продължение на 5 последователни дни; (3) МРТР + CA(2-Me)-Am, прилаган в продължение на 12 последователни дни, 5 дни едновременно с МРТР и 7 дни след МРТР; (4) CA(2-Me)-Am + олеанова киселина (ОА), прилагана ежедневно в продължение на 12 последователни дни. Невро-поведенческите параметри във всички експериментални групи мишки бяха оценени чрез ротационен тест и тест за пасивно избягване. Нашите експериментални данни показват, че CA(2-Me)-Am при паркинсонови мишки значително възстановява производителността на паметта, докато нервно-мускулната координация се доближава до контролното ниво, което показва подобряващите ефекти на новото съединение. В заключение, новосинтезираният хибрид може да бъде обещаващ агент за лечение на двигателни смущения и когнитивни увреждания при експериментална PD.

Chochkova, M., Jiang, H., Kyoseva, R., Stoykova, B., Tsvetanova, E., Alexandrova, A., Liu, R., Li, Z., Mitrev, Y., Dimitrova-Sbirikova, H., Sticha, M., Shivachev, B.. Cinnamoyl-memantine hybrids: Synthesis, X-ray crystallography and biological activities. Journal of Molecular Structure, 1234, 130147, Elsevier, 2021

Abstract

Herein, framework combinations of antioxidant substituted cinnamic acids and memantine (*N*-methyl-*d*-aspartate receptor antagonist) in a new multi-targeted chemical entity were described. The amide bond formation of the memantine hybrids **1–5** was performed by EDC/HOBt coupling reaction. The chemical structures of the synthesized compounds were confirmed by means of melting points, UV, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, and HRMS. Additionally, the crystal structures of memantine hybrids (**2–5**) were also studied by single-crystal X-ray diffraction. The single-crystal X-ray analysis revealed that the compounds **2, 5** crystallize in a centrosymmetric manner both in monoclinic space group (SG) *P*2₁/*c*, (No 14) and in a non-centrosymmetric manner for compounds **3** and **4**, SG *R*3, (No 146) and SG *P*2₁2₁2₁, (No 19), respectively.

Furthermore, preliminary *in vitro* screenings of their neuroprotective and radical scavenging activities were performed. The radical scavenging activity of synthesized memantine hybrids was measured against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH[•]), hydroxyl (OH[•]) and superoxide (O₂^{•-}) radicals and compared with the standard antioxidants (ferulic and sinapic acids). Radical scavenging activity studies show that amongst the tested hybrids, *N*-sinapoyl amide of memantine (**3**) emerges as the most potent antioxidant in all tests. Moreover, *in vitro* evaluation of anti-Alzheimer effects showed that the obtained memantine hybrids displayed neuroprotection in the moderate levels. Generally, they possess a little

weaker activity as compared to the positive control memantine. Taken together, our findings reveal that the *N*-sinapoylamide of memantine (**3**) can be considered as a promising neuroprotective agent for Alzheimer's disease, acting as well as a potent radical scavenger.

Резюме

Описани са рамкови комбинации от антиоксидантно заместени канелени киселини и мемантин (*N*-метил-*D*-аспартат рецепторен антагонист) в нова многоцелева химическа единица. Образоването на amidна връзка на мемантиновите хибриди 1–5 се извършва чрез EDC/HOBt реакция на свързване. Химичните структури на синтезираните съединения бяха потвърдени чрез точки на топене, UV, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR и HRMS. Освен това, кристалните структури на мемантинови хибриди (2–5) също са изследвани чрез монокристална рентгенова дифракция. Рентгеновият анализ разкрива, че съединенията 2, 5 кристализират в центросиметрична моноклинна пространствена група (SG) $P2_1/c$, (№ 14), така и в нецентросиметрични групи за съединения 3 и 4, SG R3, (№ 146) и SG $P2_12_12_1$, (№ 19), съответно. Бяха извършени предварителни *in vitro* скрининги на техните невропротективни и радикални дейности. Активността за улавяне на радикали на синтезирани мемантинови хибриди беше измерена спрямо 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил (DPPH•), хидроксил (OH•) и супероксид (O₂•⁻) радикали и сравнена със стандартните антиоксиданти (ферулова и синапинова киселина). Проучванията за активността на пречистване на радикали показват, че сред тестваните хибриди *N*-синапоил амидът на мемантин (**3**) се оказва най-мощният антиоксидант във всички тестове. Освен това, *in vitro* оценката на ефектите срещу Алцхаймер показва, че получените мемантинови хибриди показват невропротекция в умерени нива. Като цяло, те притежават малко по-слаба активност в сравнение с положителната контрола мемантин. *N*-синапоиламидът на мемантин (**3**) може да се счита за обещаващ невропротективен агент за болестта на Алцхаймер.

Marinova, P., Marinov, M., Kazakova, M., Feodorova, Y., Blazheva, D., Slavchev, A., Sbirkova-Dimitrova, H., Sarafian, V., Stoyanov, N.. Crystal Structure of 5'-Oxospiro-(fluorene-9,4'-imidazolidine)-2'-thione and Biological Activity of Its Derivatives. Russian Journal of General Chemistry, 91, Springer, 2021

Abstract

The presented study is devoted to the structural and biological properties of four derivatives of fluorenylspirohydantoin based on experimental data. The crystal structure of one of those, (9'-fluorene)-spiro-5-(2-thiohydantoin), is described. The compound crystallizes in monoclinic crystal system and $P2_1/c$ space group. We have pursued isolation of single crystals and biological activity tests of (9'-fluorene)-spiro-5-hydantoin, (9'-fluorene)-spiro-5-(2,4-dithiohydantoin), (9'-fluorene)-spiro-5-(2-thiohydantoin), and (4',5'-diaz-9'-fluorene)-spiro-5-hydantoin. The compounds have been tested in both adherent and suspension tumor cell lines. The cell proliferation has been assessed by the WST-assay (Roche Applied Science). The antimicrobial activity against both *Gram-positive*, *Gram-negative* bacteria, and the yeast *Candida albicans* has been studied.

Резюме

Настоящото изследване представя структурните и биологични свойства на четири производни на флуоренилспирохидантоин въз основа на експериментални данни. Описана е кристалната структура на един от тях, (9'-флуорен)-спиро-5-(2-тиохидантоин). Съединението кристализира в моноклинна кристална пространствена група $P2_1/c$. Ние изследвахме монокристали и извършихме тестове за биологична активност на (9'-флуорен)-спиро-5-хидантоин, (9'-флуорен)-спиро-5-(2,4-дитиохидантоин), (9'-флуорен)-спиро-5-(2-тиохидантоин) и (4',5'-диаза-9'-флуорен)-спиро-5-хидантоин. Съединенията са тествани както в адхерентни, така и в суспензионни туморни клетъчни линии. Клетъчната пролиферация е оценена чрез WST-анализ (Roche Applied Science). Изследвана е антимикробната активност както срещу Грам-положителни, Грам-отрицателни бактерии, така и срещу дрождите *Candida albicans*.

Marinova, P., Marinov, M., Kazakova, M., Feodorova, Ya., Blazheva, D., Slavchev, A., Georgiev, D., Nikolova, I., Sbirikova-Dimitrova, H., Sarafian, V., Stoyanov, N.. Copper(II) Complex of Bis(1',3'-Hydroxymethyl)-Spiro-(Fluorene-9,4'-Imidazolidine)-2',5'-Dione, Cytotoxicity and Antibacterial Activity of Its Derivative and Crystal Structure of Free Ligand. Russian Journal of Inorganic Chemistry, 66, Springer, 2021

Abstract

The aims of the present study were to synthesize, elucidate the structure and investigate the biological properties of substituted fluorenylspirohydantoin: Cu(II)L1 complex of 1,3-dihydroxymethyl-(9'-fluorene)-spiro-5-hydantoin (bis(1',3'-hydroxymethyl)-spiro-(fluorene-9,4'-imidazolidine)-2',5'-dione) (L1) and 4'-bromo-(9'-fluorene)-spiro-5-hydantoin (4'-bromo-spiro-(fluorene-9,4'-imidazolidine)-2',5'-dione) (L2). Based on the experimental data, the most probable structure for the copper(II) complex was suggested with one deprotonated OH group in C-7 position of two ligand L1 molecules and O4-atom and formed six-membered chelate rings $CuOCNCO-[CuL1_{-H}]_2$. We determined their cytotoxic effects on the tumor human cell line A2058 by WST-1 assay (Roche Applied Science). The antimicrobial activity against both Gram-positive, Gram-negative bacteria and the yeast *Candida albicans* was studied additionally. The structures of the new compounds were discussed based on the performed spectroscopic measurements (UV-Vis, IR, Raman, 1H - and ^{13}C NMR spectroscopy) and the single-crystal X-ray diffraction method for 1,3-dihydroxymethyl-(9'-fluorene)-spiro-5-hydantoin. The compound was crystallized in monoclinic crystal system and $P2_1/c$ space group.

Резюме

Целите на настоящото изследване са да се синтезират, изяснят структурата и да се изследват биологичните свойства на заместени флуоренилспирохидантоини: Cu(II)L1 комплекс от 1,3-дихидроксиметил-(9'-флуорен)-спиро-5-хидантоин (бис(1',3'-хидроксиметил)-спиро-(флуорен-9,4'-имидазолидин)-2',5'-дион) (L1) и 4'-бromo-(9'-флуорен)-спиро-5-хидантоин (4'-бromo-спиро-(флуорен-9,4'-имидазолидин)-2',5'-дион) (L2). Въз основа на експерименталните данни е

предложена най-вероятната структура за медния (II) комплекс с една депротонирана ОН група в С-7 позиция на две молекули лиганд L1 и О4-атом и образувани шестчленни хелатни пръстени $\text{CuONCCO} - [\text{CuL1} - \text{H})_2]$. Ние определихме техните цитотоксични ефекти върху туморната човешка клетъчна линия A2058 чрез WST-1 анализ (Roche Applied Science). Допълнително е изследвана антимикробната активност срещу Грам-положителни, Грам-отрицателни бактерии и дрождите *Candida albicans*. Структурите на новите съединения бяха обсъдени въз основа на проведените спектроскопски измервания (UV-Vis, IR, Raman, ^1H - и ^{13}C NMR спектроскопия) и метода на монокристална рентгенова дифракция за 1,3-дихидроксиметил-(9' -флуорен)-спиро-5-хидантоин. Съединението кристализира в моноклинна пространствена група $\text{P2}_1/\text{c}$.

Христина Димитрова – „Визитка на д-р Христина Димитрова“; Списание “Българска Наука”, (2021), брой Декември, стр. 18-21.; ISSN (WEB) 1314-1031

Резюме

Работата на д-р Христина Димитрова в центъра за компетентност „Персонализирана иновативна медицина (PERIMED)“, финансиран по Оперативна програма „Наука и образование за интелигентен растеж“, е свързана с монокристален структурен анализ на нови лекарствени форми, но най-вече е съсредоточена върху разработката и модификацията на нови маркери за откриване и ранно диагностициране на болестта на Алцхаймер. Обект на нейното проучване е установяването на взаимодействие и съкристализацията на Алцхаймер ДНК промоторни секвенции на амилоид прекурсорния (APP) ген с Тиофлавин Т и други флуоресцентни маркери. Флуоресценцията на Тиофлавин Т често се използва за диагностициране на амилоидната структура, но не е напълно специфична за амилоида. В зависимост от конкретните експериментални условия, Тиофлавин Т търпи или не търпи спектроскопска промяна при свързване. В някои случаи обаче, някои амилоидни влакна не влияят на флуоресценцията на Thioflavin T, което повишава вероятността от фалшиви отрицателни резултати. Именно поради тази причина Задълбоченият анализ на свързването на ThT с ДНК може значително да допринесе за решаване на проблема с оптичните свойства на. Тази информация може да бъде полезна за подобряване на биомедицинските и биологичните приложения на ThT или подобни модифицирани маркери, чиято оптимизация представлява обект на съвременните изследвания в областта, които твърдят, че флуоресцентните промени са в резултат на взаимодействието на Тиофлавин Т с двойноверижната ДНК.

Abstract

The work of Dr. Hristina Dimitrova at the center of competence "Personalized Innovative Medicine (PERIMED)", funded under the "Science and Education for Intelligent Growth" Operational Program, is related to single-crystal structural analysis of new pharmaceutical forms. It is mainly focused on the development and modification of new markers for the detection and early diagnosis of Alzheimer's disease. The object of her research is establishing the interaction and co-crystallization of Alzheimer's DNA promoter sequences of the amyloid precursor (APP) gene with Thioflavin T and other fluorescent

markers. Thioflavin T fluorescence is often used to detect amyloid structure, but is not completely specific for the amyloid. Depending on the particular experimental conditions, Thioflavin T may or may not undergo a spectroscopic change upon binding. In some cases, however, some amyloid fibers do not affect the fluorescence of Thioflavin T, increasing the false negative results. The in-depth analysis of the binding of ThT to DNA can significantly contribute to solving the problem of the optical properties of ThT. This information may be useful to improve the biomedical and biological applications of ThT or similar modified markers, the optimization of which is the subject of current research in the field, which reports that fluorescence changes result from the interaction of Thioflavin T with double-stranded DNA.

*Chayrov, R., Parisis, N., Chatziathanasiadou, M.V., Vrontaki, E., Moschovou, K., Melagraki, G., **Sbirkova-Dimitrova, H.**, Shivachev, B., Schmidtke, M., Mitrev, Y., Mavromoustakos, T., Tzakos, A.G., Stankova, I.. Synthetic Analogues of Aminoadamantane as Influenza Viral Inhibitors—In Vitro, In Silico and QSAR Studies. *Molecules*, 25, 17, MDPI (Multidisciplinary Digital Publishing Institute), 2020*

Abstract

A series of nineteen amino acid analogues of amantadine (Amt) and rimantadine (Rim) were synthesized and their antiviral activity was evaluated against influenza virus A (H3N2). Among these analogues, the conjugation of rimantadine with glycine illustrated high antiviral activity combined with low cytotoxicity. Moreover, this compound presented a profoundly high stability after in vitro incubation in human plasma for 24 h. Its thermal stability was established using differential and gravimetric thermal analysis. The crystal structure of glycyll-rimantadine revealed that it crystallizes in the orthorhombic *Pbca* space group. The structure–activity relationship for this class of compounds was established, with CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis) 3D-Quantitative Structure Activity Relationships (3D-QSAR) studies predicting the activities of synthetic molecules. In addition, molecular docking studies were conducted, revealing the structural requirements for the activity of the synthetic molecules.

Резюме

Синтезирани са серия от деветнадесет аминокиселинни аналози на амантадин (Amt) и римантадин (Rim) и тяхната антивирусна активност е оценена срещу грипен вирус А (H3N2). Сред тези аналози, конюгирането на римантадин с глицин илюстрира висока антивирусна активност, комбинирана с ниска цитотоксичност. Освен това, съединението показва изключително висока стабилност след in vitro инкубиране в човешка плазма за 24 часа. Неговата термична стабилност е установена чрез диференциален и гравиметричен термичен анализ. Кристалната структура на глицил-римантадин разкри, че той кристализира в орторомбичната пространствена група Pbca. Връзката структура-активност за този клас съединения беше установена с CoMFA (сравнителен анализ на молекулярно поле) 3D-Quantitative Structure Activity Relationships (3D-QSAR) изследвания, предвиждащи активността на синтетичните молекули. Освен това бяха проведени изследвания за молекулярен докинг, разкриващи структурните изисквания за активността на синтетичните молекули.

Chayrov, R., Tencheva, Al., Sbirikova-Dimitrova, Hr., Shivachev, B., Kujumdzieva, A., Nedeva, Tr., Stankova, Iv.. Synthesis, Antibacterial, and Antifungal Activities of Hybrid Molecules Based on Alzheimer Disease Drugs and Bearing an Amino Acid Fragment. Proceedings, 41, 23, MDPI, 2019

Abstract

The objective of the current study was to develop novel compounds—memantine derivatives with antimicrobial activity designed for application in treatment of bacterial and fungal infections in patients suffering from Alzheimer's disease. To realize this objective, a series of six memantine hybrid molecules were synthesized, characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR, MS, X-ray, and tested for their biological properties as anti-Alzheimer agents and their antimicrobial potential.

Резюме

Целта на проучването беше да се разработят нови съединения - производни на мемантин с антимикробна активност, предназначени за приложение при лечение на бактериални и гъбични инфекции при пациенти, страдащи от болестта на Алцхаймер. За реализирането на тази цел бяха синтезирани серия от шест мемантинови хибридни молекули, характеризирани с ^1H NMR, ^{13}C NMR, MS, рентгеноструктурен анализ и тествани за техните биологични свойства, като средства против Алцхаймер и техния антимикробен потенциал.

Dyulgerov, V., Sbirikova-Dimitrova, Hr., Tsvetanova, L., Rusev, R., Shivachev, B., A new polymorph of Bisacodyl. Bulgarian Chemical Communications, 50, J, Union of Chemists in Bulgaria, 2018

Abstract

A new polymorph structure of bisacodyl, (pyridin-2-ylmethylene)bis(4,1-phenylene) diacetate, was determined. The starting bisacodyl was extracted from suppositories with petroleum ether and the precipitate was recrystallized from acetone. The purity of the recrystallized product was verified with powder X-ray diffraction. The single crystal structure of bisacodyl shows that the compound crystallizes in a noncentrosymmetric manner in orthorhombic $P2_12_12_1$ space group, with unit cell parameters $a = 8.06862(18) \text{ \AA}$, $b = 8.27567(18) \text{ \AA}$, $c = 28.3631(7) \text{ \AA}$.

Резюме

Установена е нова полиморфна структура на бисакодил, (пиридин-2-илметилен)бис(4,1-фенилен) диацетат. Изходният бисакодил се екстрахира от супозитории с петролев етер и утайката се прекристализира от ацетон. Чистотата на прекристализирания продукт се проверява с прахова рентгенова дифракция. Монокристална структура на бисакодил показва, че съединението кристализира по нецентросиметричен начин в орторомбичната пространствена група $P2_12_12_1$, с параметри на елементарната клетка $a = 8.06862(18) \text{ \AA}$, $b = 8.27567(18) \text{ \AA}$, $c = 28.3631(7) \text{ \AA}$.

Sbirkova-Dimitrova, H., Ganev, V., Shivachev, B.L., Georgieva, S., Crystallization and crystal structure of lysozyme in the presence of nanosized Titanium dioxide. Bulgarian Chemical Communications, 50, F, 2018

Abstract

We present a single crystal XRD, LA-ICP-MS and cyclic voltammetry studies on the observed interaction of the protein lysozyme and TiO₂ nanosized particles (JRC NM-101, anatase). The diffraction quality of lysozyme single crystals grown in presence and absence of TiO₂ was comparable. The X-ray structure solution revealed that lysozyme crystallizes in the P4₃2₁2 space group and disclosed the presence of electron density that was assigned to Na⁺ and Ti⁴⁺ ions. LA-ICP-MS analyses were conducted on both lysozyme-TiO₂ single crystals and SDS-PAGE featuring lysozyme-TiO₂ interaction. LA-ICP-MS data confirmed the presence of Ti⁴⁺ ions and the increased concentration of Na⁺. Cyclic voltammetry and differential pulsed polarography results suggest that titanium binds successfully with the enzyme and that the complex formation is irreversible, at least in slightly acidic conditions (pH 6.5).

Резюме

Представни са монокристални XRD, LA-ICP-MS и циклични волтаметрични изследвания на наблюдаваното взаимодействие на протеина Лизозим и наноразмерни частици TiO₂ (JRC NM-101). Качеството на дифракция на монокристали на Лизозим, израстнати в присъствие и отсъствие на TiO₂, е сравнимо. Рентгеноструктурният анализ разкрива, че лизозимът кристализира в пространствената група P4₃2₁2 и разкрива наличието на електронна плътност, която е заета от Na⁺ и Ti⁴⁺ йони. LA-ICP-MS анализи бяха проведени както върху монокристали лизозим-TiO₂, така и върху SDS-PAGE, включващи взаимодействие лизозим-TiO₂. Данните от LA-ICP-MS потвърждават наличието на Ti⁴⁺ йони и повишената концентрация на Na⁺. Резултатите от цикличната волтаметрия и полярографията с диференциално изследване предполагат, че титанът се свързва успешно с ензима и че образуването на комплекс е необратимо, поне при леко кисели условия (pH 6,5).

Sbirkova-Dimitrova H.; Nikolova, R.; Rusev, R.; Dimova, L.; Shivachev, B., The co-crystallization of the DNA sequences – 5'-CGTGAATTCACG-3'(S1) and 5'-CGCGAATTCGCG-3'(S2) with fluorescent markers and ligands. Proceedings of ACTA CRYSTALLOGRAPHICA A-FOUNDATION AND ADVANCES;V74, pp. E406-E406. (2018)

Abstract

DNA sequences such as 5'-CGTGAATTCACG-3'(S1) and 5'-CGCGAATTCGCG-3'(S2), for which are characteristic regions rich in AATT bases, bind many drug forms for treatment of oncology diseases and marker dyes used in fluorescence microscopy. These DNA sequences are also interesting because of the presence of a DNA binding site with the restriction enzyme *EcoRI*. Our aim is to co-crystallize DNA with

DAPI and other fluorescent molecules. The co-crystallization includes DAPI, TO, Berenil and some new fluorescent ligands (AK3-4, AK3-9, DL72 and DL89). DAPI and Berenil lie in the narrow minor groove near the center of the B-DNA fragment positioned over the A-T base pairs. They are bound to the DNA by hydrogen interactions. DAPI inserts itself in the minor groove, displacing the ordered spine waters. DAPI, TO and Berenil, show strong fluorescence, when bound to DNA, which led to the rapid adoption of these stains, for fluorescent labeling in fluorescence microscopy. For verification of DNA ligand interaction, was used Fluorescence Intercalation Displacement (FID) method. Fluorescence spectroscopy is an effective methodology (nM quantities) suitable for checking and pre-analyzing the expected result of the co-crystallization.

Резюме

ДНК последователности като 5'-CGTGAATTCACG-3'(S1) и 5'-CGCGAATTCGCG-3'(S2), за които са характерни региони, богати на AATT бази, свързват много лекарствени форми за лечение на онкологични заболявания и маркерни багрила, използвани в флуоресцентна микроскопия. Тези ДНК последователности също са интересни поради наличието на ДНК свързващо място с рестрикционния ензим EcoRI. Нашата цел е да съкристализираме ДНК с DAPI и други флуоресцентни молекули. Съкристализацията включва DAPI, TO, Berenil и някои нови флуоресцентни лиганди (AK3-4, AK3-9, DL72 и DL89). DAPI и Berenil лежат в тясната малка бразда близо до центъра на B-DNA фрагмента, разположен над А-Т базовите двойки. Те са свързани с ДНК чрез водородни взаимодействия. DAPI се вмъква в малкия жлеб, измествайки подредените структурни води. DAPI, TO и Berenil показват силна флуоресценция, когато са свързани с ДНК, което доведе до бързото приемане на тези петна за флуоресцентно маркиране при флуоресцентна микроскопия. За проверка на взаимодействието на ДНК лиганда беше използван метод на флуоресцентно интеркалационно изместване (FID). Флуоресцентната спектроскопия е ефективна методология, която използва nM количества, подходяща за проверка и предварителен анализ на очаквания резултат от съкристализацията.

Rusev, R.; Gerova, M.; Atanasov, G.; Stanisheva, D.; Sbirikova-Dimitrova, H.; Apostolova, M.; Petrov, O.; Shivachev, B. Structural investigation of the interaction between Combretastatin A-4 analogues with benzoxazolone scaffold and alpha beta-tubulin. Proceedings of ACTA CRYSTALLOGRAPHICA A-FOUNDATION AND ADVANCES; pp. E194-E194. (2018)

Abstract

In order to design and synthesize a new class of heterocyclic analogues of natural combretastatin A-4 and its synthetic derivative AVE8062, the benzoxazolone ring was selected as a scaffold for a bioisosteric replacement of the ring B of both molecules. A library of 28 cis- and trans-styrylbenzoxazolones was obtained by a modified Wittig reaction under Boden's conditions. Structures of the newly synthesized compounds bearing the 3,4,5-trimethoxy-, 3,4-dimethoxy-, 3,5-dimethoxy-, and 4-methoxystyryl fragment at position 4, 5, 6 or 7 of benzoxazolone core were determined on the basis of spectral and X ray data. The in vitro cytotoxicity of styrylbenzoxazolones against different cell lines was examined.

Резюме

С цел да се синтезира нов клас хетероциклични аналози на естествения комбретастатин А-4 и неговото синтетично производно AVE8062, бензоксазолоновият пръстен беше избран като база за биоизостерично заместване на пръстена В на двете молекули. Набор от 28 цис- и транс-стирилбензоксазолони беше получена чрез модифицирана реакция на Wittig при условията на Boden. Определени бяха структурите на новосинтезираните съединения, носещи 3,4,5-триметокси-, 3,4-диметокси-, 3,5-диметокси- и 4-метоксистирилов фрагмент в позиция 4, 5, 6 или 7 на бензоксазолоновото ядро въз основа на спектрални и рентгенови данни. Изследвана е *in vitro* цитотоксичността на стирилбензоксазолоните срещу различни клетъчни линии.

Nikolova, R.; Sbirikova-Dimitrova, H.; Rusev, R.; Dimova, L.; Shivachev, B. Crystallization of the quadruplex (GGGGTTTTGGGG)₂ with BRACO19. Proceedings of ACTA CRYSTALLOGRAPHICA A-FOUNDATION AND ADVANCES; pp. E408-E408. (2018)

Abstract

One of the approaches for to development of new anticancer compounds focuses on the design and screening of compounds, small molecules that interact selectively with cancers cells. As telomeres are G-rich noncoding regions located at the end of chromosomes. The telomere shortens with each cell division. When it reaches a critical length it triggers DNA damage response which leads to cell death. Cancer cells have active telomerase (responsible for the maintenance of telomeres) that maintain a shorten but not critical telomere length, provoking those cells to unlimited cell division. G-rich telomeres are in practice forming G-quadruplex structures *in vivo*. Ligands that selectively bind and stabilize G-quadruplex, are interfering with telomerase activity: maintenance and elongation of telomere. We report on the interaction of the (GGGGTTTTGGGG)₂ sequence with the small molecule BRACO-19. In addition, single crystal of the DNA complex with BRACO19 were grown (Figure 1). The initial crystallization conditions included KCl, K₂CO₃ pH7.5, MgCl₂, Spermine and MPD. The crystals were brownish in color and diffracted up to 2.5 Å resolution. In order to solve the crystal structure, currently diffraction limit and crystal quality are optimized through modification of the crystallization conditions.

Резюме

Един от подходите за разработване на нови противоракови съединения се фокусира върху дизайна и скрининга на съединения, малки молекули, които взаимодействат селективно с раковите клетки. Тъй като теломерите са богати на G некодиращи области, разположени в края на хромозомите. Теломерите се скъсяват с всяко делене на клетката. Когато достигне критична дължина, той предизвиква отговор и увреждане на ДНК, което води до клетъчна смърт. Раковите клетки имат активна теломераза (отговорна за поддържането на теломерите), която ги поддържа скъсена, но не критична дължина на теломерите, провокирайки тези клетки към неограничено клетъчно делене. Богатите на G теломери на практика образуват G-квадруплексни структури *in vivo*. Лигандите, които селективно се свързват и стабилизират G-квадруплекса, пречат на

активността на теломеразата: поддържане и удължаване на теломера. Докладваме за взаимодействието на последователността (GGGGTTTTGGGG)₂ с малката молекула BRACO-19. Освен това бяха отгледани единични кристали на ДНК комплекса с BRACO19 (Фигура 1). Първоначалните условия на кристализация включват KCl, K₂CO₃ pH7.5, MgCl₂, Спермин и MPD. Кристалите са кафеникави на цвят и се дифрактират до разделителна способност от 2,5 Å. За да се реши кристалната структура, понастоящем границата на дифракция и качеството на кристалите се оптимизират чрез модифициране на условията на кристализация.

Bakalska, R., Todorova, M., Sbirikova, Hr., Shivachev, B., Koev, T.. Comparing of the crystal structure and spectroscopic properties of some stilbazolium dyes with enlarged π-conjugated system I. Chromophores with p-dimethylamino group. Dyes and Pigments, 136, Elsevier, 2017

Abstract

A comparative study of the structures and spectroscopic properties of two styrylquinolinium dyes: 4-{{(E)-2-[4-(dimethylamino)naphthalen-1-yl]ethenyl}-1-methylquinolinium iodide in an anhydrous (Structure I), and monohydrate (Structure II) forms and the newly synthesized dye 4-{{(E)-2-[4-(dimethylamino)naphthalen-1-yl]ethenyl}-1-pentylquinolinium bromide dihydrate (III) has been conducted by single crystal X-ray diffraction, IR- and Raman spectroscopy, UV-Vis, steady-state and time-resolved fluorescence spectroscopy, ¹H and ¹³C NMR spectroscopy, and TG/DTA analyses. The structures I, II and III belong to a monoclinic system, space groups *P*₂₁/*c*, *P*₂₁/*n*, and *C*₂/*c*, respectively. In all of the crystal structures the molecules in the asymmetric unit are in an *E* configuration and the naphthyl and quinolinium aromatic rings are nearly planar. The angle between the mean planes of the aromatic rings is in the range 1.43–3.65°. Calculated BLA (Bond Lengths Alternation) parameters are close to the optimal. Solvatochromism in 12 organic solvents has been investigated by using absorption and emission spectroscopy. Reversal in solvatochromic behavior of the absorption spectra has been observed. The data in solutions indicate a significant charge transfer (CT) band shifting up to 84 nm, corresponding to a great molecular first hyperpolarizability values, and very large Stokes shift up to 245 nm. The average lifetime of the fluorescence of the dye III, determined from the measured data by multi-order exponential decay curve fitting as 34.71 ns in benzene and 2.98 ns in DMSO.

Резюме

Сравнително изследване на структурите и спектроскопичните свойства на две стирилхинолиниевы багрила: 4-{{(E)-2-[4-(диметиламино)нафтаден-1-ил]етенил}-1-метилхинолиниев йодид в безводен (Структура I), и монохидратни (Структура II) форми и новосинтезираното багрило 4-{{(E)-2-[4-(диметиламино)нафтаден-1-ил]етенил}-1-пентилхинолиниев бромид дихидрат (III) е проведено чрез монокристална рентгенова дифракция, IR- и Raman спектроскопия, UV-Vis, флуоресцентна спектроскопия в стационарно състояние и с разделителна способност във времето, ¹H и ¹³C NMR спектроскопия и TG/DTA анализи. Структурите I, II и III принадлежат към моноклинните пространствени групи *P*₂₁/*c*, *P*₂₁/*n* и *C*₂/*c*, съответно. Във всички кристални структури молекулите в асиметричната единица са в конфигурация *E*, а нафтадените и хинолиниевы ароматни пръстени са

почти плоски. Ъгълът между средните равнини на ароматните пръстени е в диапазона 1,43–3,65°. Изчислените параметри на BLA (Bond Lengths Alternation) са близки до оптималните. Солватохромизмът в 12 органични разтворителя е изследван с помощта на абсорбционна и емисионна спектроскопия. Наблюдавано е обръщане в солватохромното поведение на абсорбционните спектри. Данните в разтворите показват значително изместване на лентата за пренос на заряд (CT) до 84 nm, което съответства на големи стойности на първа молекулярна хиперполяризация, и много голямо изместване на Стокс до 245 nm. Средната продължителност на живота на флуоресценцията на багрилото III, определена от измерените данни чрез напасване на експоненциална крива на затихване от много порядки като 34,71 ns в бензен и 2,98 ns в DMSO.

Hristov, P., Neov, B., Sbirkova, H., Radoslavov, G., Shivachev, B.. "Genetic polymorphism of kappa casein and casein micelle size in the Bulgarian Rhodopean cattle breed. Biotechnology in Animal Husbandry, 30, 4, Institute for Animal Husbandry, Belgrade-Zemun, 2014

Abstract

The present study aimed to compare the size of casein micelle in cow milk sample in function of kappa casein (CSN3) genetic polymorphism. Sixteen cows from Bulgarian Rhodopean cattle breed were genotyped by PCR-RFLP analysis. Milk samples from the three found CSN3 genotypes (AB, AA and BB) were employed for the determination of casein micelles size by Dynamic Light Scattering (DLS). The results showed differences in the size and polydispersity of the casein micelles between the milks of cows with different genotypes. Hydrodynamic radii of micelles at a scattering angle of 90 °C varied from 80 to 120 nm and polydispersity varied from 0.15 to 0.37. In conclusion casein micelle size of CSN3 AA cows (~ 120 nm) exceed with about 60% cows with AB (~ 80 nm) and BB genotype (~ 70 nm). These results could be useful for improving technological properties of the milk.

Резюме

Настоящото изследване има за цел да сравни размера на казеиновия мицел в проба от краве мляко във функция от генетичния полиморфизъм на капаказеин (CSN3). Генотипизирани са 16 крави от Българско родопско говедо чрез PCR-RFLP анализ. Проби от мляко от трите открити CSN3 генотипа (AB, AA и BB) бяха използвани за определяне на размера на казеиновите мицели чрез динамично разсейване на светлината (DLS). Резултатите показват разлики в размера и полидисперсността на казеиновите мицели между млеката на крави с различни генотипове. Хидродинамичните радиуси на мицелите при ъгъл на разсейване от 90 ° C варират от 80 до 120 nm, а полидисперсността варира от 0,15 до 0,37. В заключение размерът на казеиновите мицели на CSN3 AA крави (~ 120 nm) надвишава с около 60% крави с AB (~ 80 nm) и BB генотип (~ 70 nm). Тези резултати могат да бъдат полезни за подобряване на технологичните свойства на млякото.

Dimowa, L., Kossev, K., Sbirkova, H.I., Nikolova, R.P., Shivachev, B.L. Synthesis and crystal structure of oxonium 2,4,8,10-tetra-hydroxy-1,3,5,7, 9,11-hexaoxa-2,4,6,8,10-penta-borasp[5.5]undecan-6-uide hydrate. Bulgarian Chemical Communications, 45, 4, 2013

Abstract

Oxonium 2,4,8,10-tetrahydroxy-1,3,5,7,9,11-hexaoxa-2,4,6,8,10-pentaborasp[5.5]undecan-6-uide hydrate, was synthesized and its structure was investigated by single crystal X-ray diffraction and ¹¹B NMR analyses. The title compound, B₅H₉O₁₂, crystallizes in the orthorhombic crystal system, space group Aba2 with cell parameters a = 11.3286(5) Å, b = 11.0118(4) Å, c = 9.2314(4) Å, Z = 4 and V = 1151.60(8) Å³. The crystal structure is stabilized through hydrogen-bonding interactions, involving all possible donors and acceptors.

Резюме

В тази разработка е синтезиран оксониев 2,4,8,10-тетрахидрокси-1,3,5,7,9,11-хексаокса-2,4,6,8,10-пентаборасп[5.5]ундекан-6-уид хидрат (B₅H₉O₁₂). Неговата структура е изследвана чрез монокристална рентгенова дифракция и ¹¹B NMR анализи. Съединението B₅H₉O₁₂, кристализира в орторомбичната кристална система, пространствена група Aba2 с параметри на елементарната клетка: a = 11,3286(5) Å, b = 11,0118(4) Å, c = 9,2314(4) Å, Z = 4 и V = 1151,60 (8) Å³. Кристалната структура се стабилизира чрез взаимодействия на водородни връзки, включващи всички възможни донори и акцептори.

Kossev, K., Sbirkova, H.I., Petrova, N., Shivachev, B., Nikolova, R. Crystal structure and properties of urea and thiourea adducts of tetraalkyl ammonium hydrogen sulphate. Bulgarian Chemical Communications, 45, 4, 2013

Abstract

Two inclusion complexes of tetraethylammonium hydrogen sulfate (Et₄N.HSO₄) with thiourea (TU) and urea (U) were prepared and characterized by X-ray diffraction (XRD) and differential thermal analysis (DTA). The crystal structures of the commercial salt Et₄N.HSO₄ (1) and both of the complexes Et₄N.HSO₄.TU.H₂O (2) and 2Et₄N.2HSO₄.H₂SO₄.3U (3) were solved. Compounds 1 and 2 crystallize in the monoclinic P2₁/n space group and compound 3 in the triclinic P-1 one. The cations and anions in 1 display a layered-like arrangement of alternating well-ordered tetraethylammonium cations and hydrogen-bonded hydrogen sulfate anions. In 2 and 3 the anionic layer is more complex and in addition to the hydrogen sulfate it includes thiourea and water or urea molecules, respectively. The thermal behavior of both adducts is more complicated than the one of Et₄N.HSO₄ and the melting temperature of the studied compounds decreases in the following order: 1 > 3 > 2.

Резюме

Два комплекса на тетраетиламониев хидрогенсулфат (Et₄N.HSO₄) с тиюрея (TU) и урея (U) бяха получени и характеризирани чрез рентгенова дифракция (XRD) и диференциален термичен анализ (DTA). Кристалните структури на търговската сол Et₄N.HSO₄ (1) и двата комплекса Et₄N.HSO₄.TU.H₂O (2) и 2Et₄N.2HSO₄.H₂SO₄.3U (3) бяха решени. Съединения 1 и 2 кристализират в моноклинната P2₁/n пространствена група, а съединение 3 в триклинната P1. Катионите и анионите в 1 показват слоеста подредба на редуващи се добре подредени тетраетиламониеви катиони и свързани с водород водородни сулфатни аниони. При 2 и 3 анионният слой е по-сложен и в допълнение към хидрогенсулфата включва съответно тиюрея и вода или урея. Термичното поведение на двата адукта е по-сложно от това на Et₄N.HSO₄ и температурата на топене на изследваните съединения намалява в следния ред: 1 > 3 > 2.

Sbirkova, H., Hristov, P., Radoslavov, G., Shivachev, B.. Crystallographic conditions of the heterologally expressed recombinant metal-binding protein Ts-PCHTP. Bulgarian Chemical Communications, 45, 4, Union of Chemists in Bulgaria, 2013

Abstract

We have optimized the expression of Polycysteine and histidine-tailed protein (Ts-PCHTP). The protein contains a natural His-tag for metal binding, used in the protein purification process. The "tag" amino acid sequence binds very strongly to conventional Ni affinity chromatography columns and permits the protein elution with EDTA. The protein purification should be monitored by Native-PAGE as the high content of cysteine in the Ts-PCHTP protein sequence produces false positives, when SDS-PAGE technique is used. According to the DLS data a dimmer form of Ts-PCHTP is observed. Sparse matrix crystallization screens were used for the determination of the most favorable conditions for growth of crystals suitable for X-ray single crystal.

Резюме

Оптимизирахме експресията на полицистеин и протеин с опашка на хистидин (Ts-PCHTP). Протеинът съдържа естествен His-tag за метално свързване, използван в процеса на пречистване на протеини. Аминокиселинната последователност „tag“ се свързва много силно с конвенционалните Ni афинитетни хроматографски колони и позволява елуирането на протеина с EDTA. Пречистването на протеина беше наблюдавано чрез Native-PAGE, тъй като високото съдържание на цистеин в протеиновата последователност Ts-PCHTP води до фалшиви положителни резултати, когато се използва SDS-PAGE техника. Според данните от DLS се наблюдава по-слаба форма на Ts-PCHTP. Условиата за кристализация на протеините бяха определени на базата на Sparse matrix crystallization screens, като по този начин бяха оптимизирани и определени най-благоприятните условия за растеж на кристали, подходящи за изследване на базата на монокристален рентгенофракционен анализ.

*Piroeva, I., Atanassova-Vladimirova, S., Dimowa, L., **Sbirkova, H.**, Radoslavov, G., Hristov, P., Shivachev, B.. A simple and rapid scanning electron microscope preparative technique for observation of biological samples: application on bacteria and DNA samples. Bulgarian Chemical Communications, 45, 4, 2013*

Abstract

This protocol details a rapid preparative procedure enabling the visualization of biological samples like DNA and bacteria by scanning electron microscopy (SEM). This involves the fixation of the samples, followed by subsequent dehydration and the processing for electron microscopy observation. The fixation step is performed by allowing the samples to embed into an agar matrix. The dehydration of the samples ensures that they will not disrupt when processing for SEM observation or in the SEM vacuum camera. The whole process may be achieved for 6–24 hours and has been optimized for the visualization of bacteria, DNA. Samples once processed for SEM can be stored mild vacuum for weeks, allowing sufficient time for image acquisition.

Резюме

Този протокол описва подробно бърза подготвителна процедура, позволяваща визуализирането на биологични проби като ДНК и бактерии чрез сканираща електронна микроскопия (SEM). Това включва фиксиране на пробите, последвано от дехидратация и обработка за електронно микроскопско наблюдение. Стъпката на фиксиране се извършва, като се позволи на пробите да се вградят в агарна матрица. Дехидратацията на пробите гарантира, че те няма да се разрушат при обработката за SEM наблюдение или във SEM вакуумната камера. Целият процес може да се осъществи за 6–24 часа и е оптимизиран за визуализация на бактерии и ДНК. Веднъж обработени за SEM проби могат да се съхраняват в лек вакуум в продължение на седмици, което позволява достатъчно време за получаване на изображение.