

Научни публикации с абстракти на български и английски езици

Публикации Хабилитационен труд

1. Daiss J O, Burschka C, Mills J S, Montana J G, Showell G A, Fleming I, Gaudon C, **Ivanova D**, Gronemeyer H, Tacke R. Synthesis, crystal structure analysis, and pharmacological characterization of disila-bexarotene, a disila-analogue of the RXR-selective retinoid agonist bexarotene. *Organometallics*, **2005**, 24(13), 3192-3199. <https://doi.org/10.1021/om040143k>

Twofold Si-substitution (C/Si exchange) in the saturated ring of the tetrahydronaphthalene skeleton of the RXR-selective retinoid agonist bexarotene (1a) leads to disilabexarotene (1b). Compound 1b was synthesized in a multistep synthesis, starting from 1,2-bis(chlorodimethylsilyl)ethane. The identity of 1b was established by elemental analyses and multinuclear NMR studies, and the C/Si analogues 1a and 1b (and an intermediate in the synthesis of 1b) were structurally characterized by single-crystal X-ray diffraction. Furthermore, 1a and 1b were studied for their interaction with retinoid-X-receptors (RXR). Although the twofold Si-substitution of 1a resulted in significant differences in the molecular structure of 1b, disila-bexarotene (1b) was shown to be a highly potent RXR-agonist.

Двойно заместване на 2 въглеродни атома с 2 Si-атома (C/Si обмен) в наситения пръстен на тетрахидронафталеновия скелет на RXR-селективния ретиноиден агонист бексаротен (1a) води до дисилабексаротен (1b). Съединение 1b се синтезира чрез многостадийен синтез, започвайки от 1,2-бис(хлородиметилсилил)етан. Идентичността на 1b е установена чрез елементарен анализ и многоядрен ЯМР спектрален анализ, а C/Si аналозите 1a и 1b (и един междинен продукт при синтеза на 1b) структурно са характеризирани чрез single-crystal X-ray дифракция. Освен това, 1a и 1b са изследвани за взаимодействието им с ретиноидните-X-рецептори (RXR). Въпреки че двойното заместване на C-атоми със Si в структурата на 1a води до значителни разлики в молекулната структура на 1b, за дисила-бексаротен (1b) бе установено, че е много мощен RXR-агонист.

2. Lippert W P, Burschka C, Goetz K, Kaupp M, **Ivanova D**, Gaudon C, Sato Y, Antony P, Rochel N, Moras D, Gronemeyer H, Tacke R. Silicon Analogues of the RXR-Selective Retinoid Agonist SR11237 (BMS649): Chemistry and Biology. *ChemMedChem*, **2009**, 4(7), 1143-1152. <https://doi.org/10.1002/cmdc.200900090>

SR11237 (BMS649, 4 a) is a pan-RXR-selective retinoid agonist. Its silicon analogue, disila-SR11237 (4 b; twofold C/Si exchange), was prepared in a multistep synthesis by starting from 1,2-bis(ethynyldimethylsilyl)ethane. In addition, the related C/Si analogues 5 a and 5 b, with an indane (disila-indane) instead of a tetraline (disila-tetraline) skeleton, were synthesized. The C/Si pairs 4 a/4 b and 5 a/5 b were studied for their interaction with retinoid receptors and were demonstrated to be highly potent RXR-selective ("rexinoid") agonists. Interestingly, twofold C/Si exchange in the indane moiety of 5 a resulted in a 10-fold increase in biological activity of the corresponding silicon-containing rexinoid 5 b, possibly resulting from an increased receptor affinity or a divergent allosteric effect on coregulator-binding surfaces. The crystal structures of the ternary complexes formed by 5 a and 5 b, respectively, with the ligand-binding domain of hRXRa and a peptide of the co-activator TIF2/GRIP1 revealed additional interactions of the disila analogue 5 b with the H7 and H11 residues, supporting the first option of increased binding

affinity. This is the first demonstration of an increase in binding affinity of a ligand to a nuclear receptor by C/Si replacement, thereby adding this C/Si switch strategy to the repertoire of nuclear receptor ligand design.

SR11237 (BMS649, 4 a) е пан-RXR-селективен ретиноиден агонист. Неговият силициев аналог, disila-SR11237 (4 b; с двукратен C/Si обмен), се синтезира чрез многостадийен синтез, като се започне от 1,2-бис(етинилдиметилсилил)етан. Освен това са синтезирани аналогични C/Si аналози 5 a и 5 b, с инданов (дисила-инданов) вместо тетралинов (дисила-тетралинов) скелет. Двойките C/Si съединения 4 a/4 b и 5 a/5 b са изследвани за взаимодействието им с ретиноидните рецептори и е доказано, че са мощни RXR-селективни ("рекسينоидни") агонисти. Интересното е, че двойният C/Si обмен в индановата част на съединение 5 a води до 10-кратно повишаване на биологичната активност на съответния силициев рексинаид 5 b, вероятно в резултат на повишен рецепторен афинитет или дивергентен алостеричен ефект върху корегулатор-свързващите места на съответния ген, регулиран от ретиноидния рецептор. Кристалните структури на трикомпонентните комплекси, образувани съответно от 5 a и 5 b, лиганд-свързващия домен на hRXR α и пептид на коактиватора TIF2 / GRIP1, разкриват допълнителни контакти на дисила аналога 5 b с аминокиселинните остатъци на H7 и H11, показвайки възможността за повишен афинитет при свързване на лиганда с рецептора. Това е първата демонстрация на повишаване на афинитета на свързване на лиганд към ядрен рецептор чрез C/Si замяна в съответната молекула, като по този начин се формира нова C/Si стратегия при дизайна на лиганди на ядрените ретиноидни рецептори.

3. **Ivanova, D.**, Nedialkov, P., Tashev, A., Olech, M., Nowak, R., Ilieva, Y., Kokanova-Nedialkova, Z., Atanasova, T., Angelov, G., Najdenski, H.. Junipers of Various Origins as Potential Sources of the Anticancer Drug Precursor Podophyllotoxin.

Molecules, **2021**, 26(17), 5179. <https://doi.org/10.3390/molecules26175179>

Juniper representatives are natural sources of plenty of bioactive metabolites and have been used since ancient times as folk remedies against tapeworms, warts, cancer, etc. The antiproliferative activities of junipers are attributed to podophyllotoxin (PPT), which is a precursor for the synthesis of efficient anticancer drugs. However, the natural sources of PPT, *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) T. S. Ying and *Podophyllum peltatum* L., are already endangered species because of their intensive industrial exploitation. Therefore, identification of other sources of PPT is necessary. This study is a broad comparative investigation of junipers, for which original sources have been accessed from different continents of the world. The present research is aimed at the identification of species, producing PPT and other lignans at concentrations that are sufficient for the high antiproliferative activity of the corresponding extracts. Cytotoxic juniper leaf extracts demonstrated a broad spectrum of activity on a panel of cancer cell lines. The antiproliferative properties of junipers were attributed to the combined activity of great diversity of lignans (podophyllotoxin, deoxypodophyllotoxin, β -peltatin, yatein, matairesinol, anhydropodorhizol, etc.), detected by UHPLC-HRMS and LC-ESI-MS/MS in the corresponding extracts. Several species of the genus *Juniperus* L. were outlined as perspective sources of drug precursors with potential pharmaceutical applications.

Представители на видове хвойна са природни източници на много биоактивни метаболити и се използват от древни времена като средства срещу тении, брадавици, рак и др.

Антипролиферативната активност на определени видове хвойна се дължи на подофилотоксин (PPT), който е прекурсор на индустриалния синтез на високо-ефективни антитуморни лекарства. Обаче, естествените източници на PPT, *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) T. S. Ying и *Podophyllum peltatum* L., вече са застрашени видове поради интензивната им промишлена експлоатация. В тази връзка, необходимо е, да бъдат идентифицирани други природни източници на PPT. Това проучване представлява широко сравнително изследване на видовете хвойна, чиито оригинални представители са били доставени от различни континенти на света. Настоящото изследване е насочено към идентифициране на видове хвойна, произвеждащи PPT и други лигнани в концентрации, които са достатъчни за високата антипролиферативна активност на съответните екстракти. Цитотоксичните екстракти от листа на хвойна демонстрираха широк спектър на действие при различни ракови клетъчни линии. Антипролиферативните свойства на видовете хвойна се дължат на комбинираната активност на голямо разнообразие от лигнани (подофилотоксин, деоксиподофилотоксин, β -пелтатин, ятеин, матаирезинол, анхидроподоризол и др.), детектирани в съответните екстракти чрез UHPLC-HRMS и LC-ESI-MS/MS. Няколко вида от род *Juniperus* L. бяха определени като перспективни източници на прекурсори за производство на лекарствени вещества с потенциални фармацевтични приложения.

4. **Ivanova, D.**, Nedialkov, P., Tashev, A., Kokanova-Nedialkova, Z., Olech, M., Nowak, R., Boyadzhieva, S, Angelov, G., Yankov, D. Anticancer Podophyllotoxin Recovery from Juniper Leaves at Atmospheric and High Pressure Using Eco-Friendly Solvents. *Plants*, **2023**, 12(7), 1526. <https://doi.org/10.3390/plants12071526>

Podophyllotoxin (PPT) is a precursor for the synthesis of drugs against cancer and other diseases. The present sources of PPT (*Sinopodophyllum hexandrum* and *Podophyllum peltatum*) are endangered species, with PPT production highly dependent on their growing conditions. In connection with the identification of new sources of PPT, the present study aimed to recover PPT from *Juniperus virginiana* leaves via atmospheric or high pressure extraction methods with a focus on using eco-friendly solvents. PPT quantification was determined by UHPLC/HRMS/MS. A thorough study of conventional extraction was carried out to reveal the optimal conditions (solvent ethyl acetate at room temperature and 1 h duration) for maximizing the PPT recovery (about 30 mg/g of dry extract and 3 mg/g of dry initial plant material). Peleg's equation was applied for process kinetics modeling. The best PPT content in the final dry extract (42–45 mg/g of dry extract) was obtained by high pressure methods under supercritical conditions (scCO₂ with ethanol or ethyl acetate, 30 MPa, 50 °C and 100 min) or accelerated solvent extraction conditions (solvent ethyl acetate, 10.35 MPa, 20 °C and 3 cycles for 15 min). Seasonal stability and storage stability of the raw material were also determined. The present results have potential applications in the pharmacy for the delivery of PPT from juniper leaves.

Подофилотоксин (PPT) е прекурсор за индустриалния синтез на лекарства за лечение на рак и други заболявания. Настоящите източници на PPT (*Sinopodophyllum hexandrum* и *Podophyllum peltatum*) са застрашени видове, като техния биосинтез на PPT е силно зависим от условията на отглеждането им. Във връзка с идентифицирането на нови източници на PPT, настоящото проучване има за цел да бъде получен PPT от листата на *Juniperus virginiana* чрез оптимизирани методи за екстракция при атмосферно или високо налягане с акцент върху използването на екологични разтворители. Количественото определяне на

PPT е определено чрез UHPLC/HRMS/MS. Проведено е задълбочено проучване на екстракция при атмосферно налягане, за да се установят оптималните условия (разтворител етилацетат при стайна температура и продължителност 1 час) за максимален добив на PPT (около 30 mg/g сух екстракт и 3 mg/g сух изходен растителен материал). Уравнението на Пелег е приложено за моделиране на кинетиката на процеса. Най-високо съдържание на PPT в крайния сух екстракт (42–45 mg/g сух екстракт) е получено при екстракция чрез методи при високо налягане: при свръхкритични условия (scCO₂ с етанол или етилацетат, 30 MPa, 50 °C и 100 min) или при условия на ускорена екстракция (с разтворител етилацетат, 10.35 MPa, 20°C при прилагане на 3 цикъла за 15 минути). Определена е и стабилността на суровината през различните сезони, както и при различни условия на съхранение на суровината. Настоящите резултати имат потенциално приложение във фармацията за получаване на PPT от листа на видове хвойна.

Публикации извън хабилитационен труд

5. Bojilova A, **Ivanova D**. Synthesis of some basic 3-(1-Acylaminobenzyl)-2H-1-benzopyran-2-ones.

Archiv der Pharmazie, **1991**, 324 (8), 483-484.

<https://doi.org/10.1002/ardp.2503240804>

The reaction of 3-(1-propanoyloxybenzyl)-2H-1-benzopyran-2-one (**2**) with the nitriles of 4-dimethylaminobenzoic, 4-diethylaminobenzoic, nicotinic, isonicotinic, and 3-dimethylaminopropionic acid in conc. H₂SO₄ yields the amides (**3a-e**). **3a-d** were converted into hydrochlorides. The synthesized compounds have potential analgesic, spasmolytic etc. activities.

Реакцията на 3-(1-пропаноилоксибензил)-2H-1-бензопиран-2-он (**2**) с нитрилите на 4-диметиламинобензоена, 4-диетиламинобензоена, никотинова, изоникотинова и 3-диметиламинопропионова киселина в conc. H₂SO₄ дава амиди (**3a-e**). **3a-d** са превърнати в хидрохлориди. Получените съединения имат потенциално аналгетично, спазмолитично и други действия.

6. **Ivanova D**, Eremin S, Shvets V. The synthesis of a coumarin analogue of retinal.

Tetrahedron, **1996**, 52(28), 9581-9588.

[https://doi.org/10.1016/0040-4020\(96\)00495-4](https://doi.org/10.1016/0040-4020(96)00495-4)

A new coumarin analogue of retinal was synthesized by Wittig condensation of (2-oxo-2H-chromen-3-yl)methyltriphenylphosphonium chloride and (2E,6Z) 2,6-dimethyl-8-triphenylsilyloxyocta-2,6-dien-4-yn-1-al in high yield. Subsequent triphenylsilyl group removal, MnO₂ oxidation, followed by hydrogenation over Lindlar catalyst and isomerization in the presence of traces of iodine furnished the desired polyenal. This *all-trans* coumarin analogue of retinal was used for study of the bacteriorhodopsin chromophore binding site. Elsevier Science Ltd.

Нов кумаринов аналог на ретинала е синтезиран чрез кондензация на Витиг на (2-оксо-2H-хромен-3-ил)метилтрифенилфосфониев хлорид и (2E,6Z) 2,6-диметил-8-трифенилсилилоксиокта-2,6-диен-4-ин-1-ал с висок добив. Последващо отстраняване на трифенилсилилна група, окисление с MnO₂, последвано от хидрогениране чрез Lindlar катализатор и изомеризация в присъствието на следи от йод, води до получаването на

посочения полиенал (кумаринов аналог на ретинала). Този *all trans* кумаринов аналог на ретинала е използван за изследване на хромофор-свързващия център на бактериородопсин. Elsevier Science Ltd.

7. **Ivanova D**, Kolev V, Lazarova Tz, Padros E. Synthesis of new heterocyclic and polycyclic aromatic retinals and their bacteriorhodopsin analogues.

Tetrahedron Letters, **1999**, 40(13), 2645-2648.

[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(99\)00263-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(99)00263-4)

New heterocyclic and polycyclic retinal analogues were synthesized and their recombination with bacterioopsin was studied. Elsevier Science Ltd.

Синтезирани са нови хетероциклични и полициклични аналози на ретинала (витамин-А-алдехид) и е изследвана тяхната рекомбинация с бактериоопсин. Elsevier Science Ltd.

8. **Ivanova, D.**, Vassileva, M., Vassilev, N., Pashkuleva, I., Koleva, R.. Stereoselective synthesis of new coumarin and *N*-methylcarbazole retinoic acid analogs.

Journal of the Indian Chemical Society, **2003**, 80, 650-653.

<https://doi.org/10.5281/zenodo.5839971> ; <https://zenodo.org/records/5839971>

New coumarin and *N*-methylcarbazole derivatives of retinoic acid were synthesized. The synthesized compounds have potential application in the identification of new agonists for the nuclear retinoic acid receptors.

Синтезирани са нови кумаринови и *N*-метилкарбазолови производни на ретиноевата киселина. Получените съединения имат потенциално приложение за идентифициране на нови агонисти на ядрените рецептори на ретиноевата киселина.

9. **Ivanova D**, Gronemeyer H, de Lera A. Design and Stereoselective Synthesis of Retinoids with Ferrocene or *N*-Butylcarbazole Pharmacophores that Induce Post-Differentiation Apoptosis in APL Cells.

ChemMedChem, **2011**, 6(8), 1518-1529. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201100065>

New ferrocene and *N*-alkylcarbazole retinoids were designed and synthesized stereoselectively in good yields. A number of these synthesized ligands, in particular 2, 3, and 11, were found to exhibit a high RAR α activation potential and to effectively induce post-differentiation apoptosis in NB4 acute promyelocytic leukemia (APL) cells. Increasing the length of the side chain attached to the heterocycle of the carbazole retinoids creates new opportunities for altered compound catabolism and for fine-tuning of the apoptosis-inducing potential of the ligand. In the carbazole series of new retinoids, maximal activity was established for *N*-butylcarbazole analogue 11 in all assays (i.e., RAR α activation, differentiation induction, and apoptosis induction). Study of the mechanism of apoptosis revealed an activation of initiator caspases-8 and -9, followed by efficient cleavage of effector caspase-3 on day 6 of treatment. Subsequent induction of a caspase cascade in NB4 cells triggered ultimate leukemic cell death. The selected ligands 2, 3, and 11 may provide alternate options for the treatment of APL in cases of life-threatening ATRA syndrome, resistance, and high toxicity to conventionally used retinoids.

Нови фероценови и *N*-алкилкарбазолови ретиноиди са синтезирани стереоселективно с добри добиви. Установено е, че някои от тези синтезирани лиганди, по-специално 2, 3 и 11,

проявяват висок потенциал за активиране на ядрените ретиноидни рецептори RAR α и ефективно индуцират диференциация и следваща апоптоза в NB4 клетки (APL, остра промиелоцитна левкемия). Удължаването на страничната верига, свързана с хетероцикъла при карбазоловите аротиноиди, създава нови възможности за променен катаболизъм на съединението и за промяна на апоптозис-индуциращия потенциал на съответния лиганд. При карбазоловата серия нови ретиноиди е установена максимална активност при аналог 11 (*N*-бутилкарбазолов аналог) при всички тестове (т.е. активиране на RAR α , индукция на диференциация и апоптоза в изследваните ракови клетки). Изследването на механизма на апоптозата показва активиране на инициаторните каспази-8 и -9, последвано от ефективно активиране на ефекторна каспаза-3 на 6-ия ден от третирането на раковите клетки. Последващото активиране на каспазна каскада в NB4 клетките предизвиква тяхната апоптоза. Подбрани са лиганди 2, 3 и 11, които могат да предоставят алтернативни възможности за лечение на APL в случаи на животозастрашаващия синдром на *транс*-ретиноевата киселина (ATRA), резистентност към използваните като лекарства ретиноиди или висока токсичност на конвенционалните химиотерапевтични агенти.

10. **Ivanova D**, Gronemeyer H, Steinberg P, Nau H. Enantioselective apoptosis induction in histiocytic lymphoma cells and APL cells.

Arch Toxicol, **2013**, 87(2), 303-310. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0930-3>

The aim of this study was to identify valproic acid (VPA) analogs with a broad spectrum of anti-cancer activities and an increased apoptosis-inducing potential compared with the parent VPA, which is enrolled as histone deacetylase (HDAC) inhibitor in a large number of clinical trials. We identified a chiral VPA derivative, (*S*)-2-pentyl-4-pentynoic acid, previously characterized as HDAC inhibitor that induced massive programmed cell death in a strongly enantioselective manner in U937 histiocytic lymphoma cells and NB4 acute promyelocytic leukemia cells. By fluorescence-activated cell sorting and Western blot analyses, we established that enantiomer (*S*)-2-pentyl-4-pentynoic acid has higher apoptosis-inducing potential than VPA itself. The optic antipode (*R*)-2-pentyl-4-pentynoic acid and VPA caused under the same conditions only a weak growth inhibition without inducing cell differentiation and apoptosis. (*S*)-2-pentyl-4-pentynoic acid is more apoptogenic than VPA and displays enantioselective anti-cancer properties that warrant further research regarding the mechanistic basis of its activity and its potential use in cancer therapy.

Целта на това изследване е да бъдат идентифицирани аналози на валпроевата киселина (VPA) с широк спектър на антитуморно действие и висок потенциал за индуциране на апоптоза в ракови клетки в сравнение с изходното съединение VPA, което е използвано като инхибитор на хистонови деацетилази (HDAC) в голям брой клинични проучвания. Идентифицирахме хирално VPA производно, (*S*)-2-пентил-4-пентинова киселина, охарактеризирано като HDAC-инхибитор, което индуцира масивна програмирана клетъчна смърт по енантиселективен начин в U937 клетки (histiocytic lymphoma) и NB4 клетки (остра промиелоцитна левкемия). Чрез течна цитометрия (FACS, fluorescence-activated cell sorting) и Western blot анализи установихме, че енантиомерът (*S*)-2-пентил-4-пентиновата киселина има по-висок потенциал за индуциране на апоптоза в сравнение с изходната VPA. Оптичният антипод (*R*)-2-пентил-4-пентинова киселина и VPA предизвикват при същите условия само слабо инхибиране на растежа на третираните ракови клетки, без да

индуцират в тях клетъчна диференциация и апоптоза. (*S*)-2-пентил-4-пентиновата киселина има по-висок апоптогенен потенциал от VPA и притежава енантиоселективни антитуморни свойства. Необходими са по-нататъшни изследвания на механизма на действие на изследвания (*S*)-аналог на VPA във връзка с потенциалната употреба на това съединение при терапията на рака.

11. **Ivanova D.**, Boyadzieva S., Angelov G., Nedialkov P., Nedelcheva-Antonova D., Tsvetanova F. Activity-guided extraction optimization of highly efficient antioxidant plant species: Study of *Rhodiola rosea* L. (Golden root). *Bulgarian Chemical Communications*, **2018**, 50 (Special issue C), 151-157.
<http://www.bcc.bas.bg/>

The species of the genus *Rhodiola* L. (Crassulaceae) are mainly distributed in different cold regions of the Northern Hemisphere of the world. The Golden root (*Rhodiola rosea* L.) extract is known in the traditional medicine as adaptogen to treat fatigue, depression and stress-associated diseases. The Golden root extract was selected for a comprehensive study because it exhibited superior antioxidant properties in a group of other efficient antioxidant plant species studied here. Consequently, we aimed our study at an antioxidant activity – guided optimization of *Rh. rosea* extraction by selection of experimental conditions leading to maximum total polyphenolic content and antioxidant activity of the extract. Using a set of variable parameters (solvent composition, temperature, ratio solvent-to-raw material, process duration), it was suggested that extraction in 25% ethanol, at 50°C, using solvent-to-solid ratio of 15 (v/w) and process duration of 3-5 min are optimal extraction conditions for obtaining of Golden root extracts with maximum total polyphenolic content (TPC) and antioxidant activity. Metabolite identification in the extract with the best antioxidant activity was performed by both HPLC and UHPLC/HRMS methods. It was found that *Rh. rosea* extract, obtained at optimal conditions, contained 2.29±0.05% of rosavin and 0.80±0.02% of salidroside. The Golden root extract, obtained in this study at optimal conditions regarding its antioxidant activity, has potential application in the production of high-quality plant extracts for prevention of cancer and oxidative-stress associated diseases, including cardio-, neuro- and hepato-degenerative disorders.

Видовете от род *Rhodiola* L. (Crassulaceae) са разпространени главно в студени райони на Северното полукълбо. Екстрактът от Златен корен (*Rhodiola rosea* L.) е известен в традиционната медицина като адаптоген за лечение на умора, депресия и заболявания, свързани със стреса. Екстрактът от Златен корен е избран за подробно изследване, тъй като проявява превъзходни антиоксидантни свойства сред други изследвани ефективни антиоксидантни растителни видове. В тази връзка, нашето проучване бе насочено към оптимизация на екстракцията на *Rh. rosea* чрез подбор на експериментални условия, водещи до максимално тотално съдържание на полифеноли и антиоксидантна активност на изследвания екстракт. Използвайки набор от променливи параметри на процеса (състав на разтворителя, температура, съотношение разтворител/суровина, продължителност на екстракцията), бяха предложени следните условия за получаване на екстракт от Златен корен с оптимизирано тотално полифенолно съдържание (TPC) и антиоксидантна активност: разтворител 25% етанол, температура 50°C, съотношение разтворител/суровина 15 (v / w) и продължителност на процеса 3-5 минути. Идентификацията на метаболити в

екстракта от Златен корен с най-висока антиоксидантна активност бе установено чрез HPLC и UHPLC / HRMS методи. Установено бе, че екстрактът от *Rh. rosea*, получен при оптимални условия, съдържа $2,29 \pm 0,05\%$ розавин и $0,80 \pm 0,02\%$ салидрозид. Екстрактът от Златен корен, получен в това изследване при оптимизирани условия по отношение на антиоксидантната му активност и ТРС, има потенциално приложение в производството на висококачествени растителни екстракти за профилактика на рака и други болести, асоциирани с оксидативен стрес, включително кардио-, невро- и хепато-дегенеративни заболявания.

12. **Ivanova, D.**, Tashev, A., Nedialkov, P., Ilieva, Y., Atanassova, T., Olech, M., Nowak, R., Angelov G., Tsvetanova, F., Iliev, I., Kokanova-Nedialkova, Z., Yotov, G.. Antioxidant and antiproliferative activity of *Juniperus* L. species of Bulgarian and foreign origin and their anticancer metabolite identification.

Bulgarian Chemical Communications **2018**, 50 (Special issue C), 144-150.

<http://www.bcc.bas.bg/>

The genus *Juniperus* L. (Cupressaceae) comprises more than 50 species in the world. Widely distributed junipers are evergreen plants that are easy for cultivation, produce a considerable amount of biomass all the year and are rich of biologically active compounds, including antioxidants and anticancer substances. This study is aimed at a systematic investigation of Bulgarian *Juniperus* species in comparison with foreign representatives with the aim to select these having high antiproliferative and antioxidant activity. In the group of studied plant extracts, the best antiproliferative activity in NB4 acute promyelocytic leukemia cells was determined for *J. sabina* L., *J. virginiana* L. and *J. virginiana* 'Grey Owl' leaf extracts. The best antioxidant activity was exhibited by *J. sibirica* and *J. excelsa* leaf extracts in the group of analyzed species. While efficient antioxidant activity is desired for cancer prevention, efficient antiproliferative agents are required in the anticancer chemotherapy. Using liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) we identified podophyllotoxin, a known anticancer drug precursor, in selected juniper extracts with antiproliferative activity. Identification of other plant metabolites (lignans, phenolic compounds etc.) is in progress. The identification of juniper extracts with efficient antiproliferative and antioxidant activity has potential application in clinical trials about combination therapy with other anticancer agents for treatment of resistance to conventional chemotherapy, disease relapse and reduction of the therapeutical doses of cytostatic drugs.

Род *Juniperus* L. (Cupressaceae) обхваща повече от 50 вида в света. Широко разпространените видове хвойна са вечнозелени растения, които са лесни за отглеждане, произвеждат значително количество биомаса през цялата година и са богати на биоактивни съединения, вкл. антиоксиданти и антитуморни вещества. Настоящото изследване е насочено към систематично изследване на българските видове хвойна в сравнение с чуждестранни представители с цел подбор на видове с висока антипролиферативна и антиоксидантна активност. В групата на изследваните растителни екстракти бе установена най-висока антипролиферативна активност при NB4 клетки (остра промиелоцитна левкемия) за екстракти от листа на *J. sabina* L., *J. virginiana* L. и *J. virginiana* "Grey Owl". Най-висока антиоксидантна активност бе установена за екстрактите от листа на *J. sibirica* и *J. excelsa* в групата на изследваните видове. Докато ефективната антиоксидантна

активност е необходима при профилактика на рака, при химиотерапията на рака са необходими ефективни антипролиферативни средства. Използвайки LC-ESI-MS/MS (течна хроматография в тандем с мас-спектроскопия), идентифицирахме подофилотоксин (известен прекурсор за индустриално производство на антитуморни лекарства) в подбраните екстракти от видове хвойна с антипролиферативна активност. Планира се идентифициране на други растителни метаболити (лигнани, фенолни съединения и др.) в изследваните екстракти. Идентифицирането на екстракти от видове хвойна с ефективна антипролиферативна и антиоксидантна активност има потенциално приложение при клинични проучвания относно комбинирана терапия на рака с други антитуморни средства, в случаи на резистентност към конвенционалната химиотерапия, рецидиви на заболяването или при проучвания за намаляване на терапевтичните дози на използваните цитостатици.

13. Li, J., Jia, X., **Ivanova, D.** Chemoendocrine metronomic therapy of estrogen receptor-positive breast cancer by taxanes or capecitabine in combination with aromatase inhibitors.

Journal of Pharmaceutical Research, **2018**, 17(2), 78-82

[DOI:10.18579/jpcrk/2018/17/2/127179](https://doi.org/10.18579/jpcrk/2018/17/2/127179)

The intense anticancer therapy using conventional cytostatic drugs is accompanied by serious side effects that restrict the application of the cytostatic drugs. Metronomic therapy is a modern method for administration of low doses of cytostatic agents that in combination with other anticancer drugs induce long lasting tumor dormancy with minimal side effects. **Aim:** We aimed our study at investigation of the efficacy of a contemporary chemoendocrine metronomic therapy, including cytostatic drugs, such as paclitaxel or capecitabine, in combination with aromatase inhibitors (AI, anastrozole, letrozole), in the treatment of estrogen receptor-positive breast cancer. **Presentation of Case:** The patient (74 years old) was initially diagnosed with advanced stage pT4bpN2Mx of infiltrative ductal breast carcinoma with lymph, lung and bone metastases. **Discussion:** Based on high estrogen receptor sensitivity in 67-100% of the analysed tumor cells, endocrine therapy was applied after mastectomy. However, progression of the disease required involvement of systemic cytostatic agents in the therapy. Following the achievements of the contemporary medicine, chemoendocrine metronomic therapeutical protocols, including combination of anastrozole with taxane or capecitabine, were found to induce rapid and continuous disease remission. **Conclusion:** This case report demonstrated rapid achievement of continuous remission by a contemporary chemoendocrine metronomic treatment of metastatic ER-positive breast cancer in all stages of the therapy: systemic anticancer treatment with weekly paclitaxel plus anastrozole, followed by anastrozole plus low doses of capecitabine and analogous maintenance therapy. The results can be explored in future clinical trials about synergy between hormone inhibitors and cytostatic agents in combination anticancer therapies.

Интензивната химиотерапия, използваща конвенционални цитостатици, е придружена от сериозни странични ефекти, които ограничават приложението на цитостатичните лекарства. Метрономната терапия е съвременен метод за прилагане на ниски дози цитостатици, които в комбинация с други антитуморни лекарства предизвикват дълготрайна латентност на тумора с минимални странични ефекти. **Цел:** Насочихме нашето

проучване към изследване на ефикасността на съвременна хемоендокринна метрономна терапия, вкл. с използване на цитостатични лекарства, като паклитаксел или капецитабин, в комбинация с ароматазни инхибитори (AI, анастрозол, летрозол), при лечението на естроген-рецепор-позитивен рак на гърдата. **Клинично описание:** Пациентът (на възраст 74 г.) първоначално е диагностициран с напреднал стадий pT4bpN2Mx на инфилтративен дуктален карцином на гърдата с лимфни, белодробни и костни метастази. **Дискусия:** Въз основа на установената висока чувствителност на естрогенните рецептори в 67-100% от анализираният туморни клетки, след мастектомия е приложена ендокринна терапия. Прогресията на заболяването обаче наложи прилагане и на системни цитостатици в терапията. Следвайки постиженията на съвременната медицина, бе установено, че хемоендокринната метрономна терапия, вкл. използване на комбинация от анастрозол с таксани или капецитабин, предизвикват бърза и продължителна ремисия на заболяването. **Заклучение:** Този случай показва бързо постигане на продължителна ремисия чрез съвременна хемоендокринна метрономна терапия на метастазен ER-позитивен рак на гърдата при всички етапи на лечението: системно противораково лечение с паклитаксел и анастрозол, следвано от прилагане на анастрозол с ниски дози капецитабин и аналогична поддържаща терапия.

14. Li, J., Zuo, W., **Ivanova, D.**, Jia, X., Lei, L., Liu, G.. Metronomic capecitabine combined with aromatase inhibitors for new chemoendocrine treatment of advanced breast cancer: a phase II clinical trial.

Breast Cancer Research and Treatment, 2019, 173(2), 407-415.

<https://doi.org/10.1007/s10549-018-5024-3>

Purpose This study was designed to determine the safety and clinical efficacy of metronomic chemotherapy combined with aromatase inhibitors (AIs) for hormone receptor (HR)-positive advanced breast cancer (ABC) patients who cannot tolerate conventional-dose chemotherapy. **Methods** Postmenopausal patients with HR-positive ABC, who exhibited disease progression after first-line AIs treatment and who could not tolerate or rejected conventional chemotherapy, were enrolled in this study. Patients received capecitabine 500 mg PO TID (could be reduced to 500 mg QD in case of adverse effects) and exemestane 25 mg QD (after PD with letrozole) or letrozole 2.5 mg QD (after PD with exemestane). The primary endpoints were safety and tolerance, the secondary endpoints were objective response rate (ORR), clinical benefit rate (CBR), progression-free survival (PFS), and time to treatment failure (TTF). **Results** In our analysis of 44 patients, the median age was 64 years (range 38–90) and 68.2% patients had at least two recurrences or metastatic lesions. Grade 3 toxicities (hand–foot syndrome) were observed only in 4 of the patients. Most patients exhibited no or mild toxicities. After a median follow-up of 14.8 months, ORR was 70.5%, CBR—77.3%, PFS—16.2 months, and TTF—14.4 months. **Conclusions** Metronomic oral capecitabine combined with AIs showed good efficacy, minimal toxicities, and good tolerance in HR-positive patients with ABC. It is a potential treatment option especially for postmenopausal HR-positive ABC patients in poor general condition who cannot tolerate conventional chemotherapy. Trial registration: *Clinicaltrials.gov* NCT01924078

Цел: Това клинично проучване е насочено към определяне на безопасността и клиничната ефикасност на метрономната химиотерапия, комбинирана с ароматазни инхибитори (AIs) за пациенти с напреднал рак на гърдата (advanced breast cancer, ABC), положителен за

хормонални рецептори (HR), които не са подходящи (възрастни пациенти и др.) за лечение чрез конвенционална химиотерапия. **Методи:** В това клинично проучване са включени пациенти в постменопауза с HR-положителен ABC, които са регистрирани с прогресия на заболяването след лечение с Als от първа линия и които не биха издържали конвенционалната химиотерапия. Пациентите са получавали капецитабин 500 mg три пъти дневно (PO TID) (може да бъде намален до 500 mg веднъж дневно в случай на нежелани реакции) и екземестан 25 mg веднъж дневно [след прогресия на болестта, progress of disease (PD), с летрозол] или летрозол 2,5 mg веднъж дневно (след PD с екземестан). Първичните крайни цели на проучването са безопасност и поносимост на терапията, вторичните крайни цели са objective response rate (ORR), clinical benefit rate (CBR), преживяемост без прогресия на заболяването (progression-free survival, PFS) и време до рецидив на заболяването (time to treatment failure, TTF). Резултати В нашия анализ на 44 пациенти медианата на възрастта е 64 години (диапазон 38–90), а 68,2% от пациентите са имали поне два рецидива или метастатични лезии. Токсичност степен 3 (синдром ръка-крак) е наблюдавана само при 4 от пациентите. Повечето пациенти не показват никаква или лека токсичност. След медиана на проследяване от 14,8 месеца, ORR е 70,5%, CBR – 77,3%, PFS – 16,2 месеца и TTF – 14,4 месеца. **Резултати:** В нашето клинично проучване на 44 пациенти средната възраст бе 64 години (диапазон 38–90), а 68,2% от пациентите са имали поне два рецидива или метастатази. Токсичност степен 3 (синдром на обриви на ръце-крака) бе наблюдавана само при 4 от пациентите. Повечето пациенти не показваха никаква или лека токсичност. След проследяване за средно 14,8 месеца, ORR е 70,5%, CBR – 77,3%, PFS – 16,2 месеца и TTF – 14,4 месеца. **Заключение:** Прилагане на метрономни дози на перорален капецитабин в комбинация с AI показва добра ефикасност, минимална токсичност и добра поносимост при HR-позитивни пациенти с ABC. Това е потенциална възможност за лечение, особено за постменопаузални HR-позитивни пациенти с ABC в лошо общо състояние, които не са подходящи за конвенционална химиотерапия. Регистрация на клиничното проучване: *Clinicaltrials.gov* NCT01924078

15. **Ivanova, D.**, Adams, R.P., Anderson, J., Tashev, A., Nedialkov, P., Kokanova-Nedialkova, Z., Ilieva, Y., Atanassova, T., Kalotova, G., Angelov, G., Najdenski, H.. Extraction of bioactive compounds from conifers growing in the Windsor Great Park and other arboretums.

Bulgarian Chemical Communications, **2020**, 52 (4), 543-548

<http://www.bcc.bas.bg/>

The present study is aimed at identification of antioxidant and antiproliferative compounds in extracts of conifers originating from the Windsor Great Park (WGP), UK, and other arboretums. Species of the genera *Juniperus*, *Cupressus*, *Chamaecyparis* and *Taxus* were studied. Rare representatives of *J. indica*, *J. squamata*, *J. pingii*, *J. recurva*, *J. davurica* etc., as well as widely distributed species and cultivars were analyzed. Antioxidant activities were evaluated by total polyphenol content (TPC) and half-maximum DPPH-radical scavenging concentrations (DPPH-SC₅₀) of the extracts. Antiproliferative activities were determined by half-maximum growth-inhibitory concentrations (IC₅₀) obtained after MTT-assay of NB4 acute promyelocytic leukemia cells treated with the corresponding extracts. In this group of studied conifers, *J. indica* leaf extract was determined as the best antioxidant agent with DPPH-SC₅₀ 52 µg/ml and TPC 320±10 GAE mg/g extract. The best antiproliferative properties were demonstrated by the leaf extracts

of *J. virginiana* cultivars with NB4-IC₅₀ in the range of 0.27-0.31 µg/ml. Remarkable cytotoxic activity was found also for *J. × pfitzeriana*, *J. pingii* var. *wilsonii* and *T. baccata* leaf extracts. Rare species, such as *J. indica* and *J. recurva* "Embley Park", also showed high antiproliferative activity. Podophyllotoxin was identified in the best cytotoxic extracts obtained from *J. virginiana* and *J. × pfitzeriana* cultivars. Identification of other metabolites in the efficient bioactive extracts is in progress. The present results revealed various conifers as potential sources of cytotoxic and antioxidant lead compounds for prevention of oncogenic, degenerative or other radical-induced diseases.

Настоящото изследване е насочено към идентифициране на антиоксиданти и антипролиферативни съединения в екстракти от иглолистни дървета, произхождащи от Windsor Great Park (WGP), Великобритания и други арборетуми. Изследвани са видове от родовете *Juniperus*, *Cupressus*, *Chamaecyparis* и *Taxus*. Анализирани са представители на рядко срещани видове като *J. indica*, *J. squamata*, *J. pingii*, *J. recurva*, *J. davurica* и др., както и широко разпространени видове и култивари на иглолистни растения. Антиоксидантната активност е анализирана чрез определяне на общото съдържание на полифеноли (TPC) и концентрациите DPPH-SC₅₀ (half-maximum DPPH-radical scavenging concentrations) на екстрактите. Антипролиферативната активност е анализирана чрез концентрациите IC₅₀ (half-maximum growth-inhibitory concentrations), получени след МТТ-тест на NB4 клетки (остра промиелоцитна левкемия), третирани със съответните екстракти. В групата от изследвани иглолистни видове, екстрактът от листа на *J. indica* бе определен като най-ефективния антиоксидант с DPPH-SC₅₀ 52 µg / ml и TPC 320±10 GAE mg / g екстракт. Най-ефективните антипролиферативни свойства бяха установени за екстракти от листа на *J. virginiana* култивари с NB4-IC₅₀ в диапазона 0,27-0,31 µg/ml. Висока цитотоксична активност бе установена и за екстракти от листа на *J. × pfitzeriana*, *J. pingii* var. *wilsonii* и *T. baccata*. Редки видове, като *J. indica* и *J. recurva* "Embley Park", също показваха висока антипролиферативна активност. Подофилотоксин е идентифициран в най-ефективните цитотоксични екстракти, получени от култивари на *J. virginiana* и *J. × pfitzeriana*. Планирано е идентифицирането на други метаболити в екстрактите с висока биоактивност. Чрез резултатите в настоящето изследване бяха идентифицирани различни иглолистни видове като потенциални източници на цитотоксични и антиоксидантни съединения за превенция на онкогенни, дегенеративни или други радикал-индуцирани заболявания.

16. Olech, M., Nowak, R., **Ivanova, D.**, Tashev, A., Boyadzhieva, S., Kalotova, G., Angelov, G., Gawlik-Dziki, U. LC-ESI-MS/MS-MRM profiling of polyphenols and antioxidant activity evaluation of junipers of different origin.

Applied Sciences, **2020**, 10, 8921; <https://doi.org/10.3390/app10248921>

This study was aimed at identification of new efficient antioxidant juniper species and their metabolites, which are responsible for this activity. About 30 juniper representatives were assayed for antioxidant activity [DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS (2,20 -azino-bis(3- ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) radical scavenging] and total polyphenol content (TPC). The most active species were identified, and their most abundant polyphenols were quantified by the LC-electrospray ionization (ESI)-MS/MS-multiple reaction monitoring (MRM) method. In the group of studied species, *J. ashei* (mountain cedar) leaf extract was outlined as the best antioxidant with the highest TPC. Catechin was revealed as the most abundant

polyphenol in the *J. ashei* extract, contributing to its superior antioxidant properties. An in-depth analysis of antioxidant capacity was also performed. The higher metal-chelating activity was observed in the case of *J. sibirica* (0.83 mg DE/mL), whereas the lowest was observed for *J. communis* (3.2 mg dry extract (DE)/mL) extracts. All efficient antioxidant extracts were also able to inhibit lipoxygenase. EC₅₀ values ranged from 1.77 to 2.44 mg DE/mL. The most effective inhibitors were *J. ashei* and *J. formozana* extracts, which acted as uncompetitive lipoxygenase (LOX) inhibitors. The presented results have potential application in the pharmacy and cosmetics for the generation of antioxidant compositions based on naturally derived lead compounds for the prevention of oxidative-stress associated organ-degenerative diseases, cancer, or other free radical-induced disorders.

Това изследване е насочено към идентифициране на видове хвойна с ефективна антиоксидантна активност на съответните екстракти и техните метаболити, които са отговорни за тази активност. Около 30 представители на видове хвойна бяха изследвани за антиоксидантна активност [DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилхидразил) и ABTS (2,20-азино-бис (3-етилбензтиазолин-6-сулфонова киселина) методи] и определяне на общо съдържание на полифеноли (TPC). Идентифицирани са видовете с най-висока активност, а техните най-разпространени полифеноли са определени количествено чрез метода LC-ESI-MS/MS-multiple reaction monitoring (MRM). В групата на изследваните видове, екстрактът от листа на *J. ashei* (планински кедр) е установен като най-ефективен антиоксидант с най-високо TPC-съдържание. Катехин е детектиран като най-разпространения полифенол в екстракта от *J. ashei*, допринасяйки за неговите превъзходни антиоксидантни свойства. Проведен е и подробен анализ на екстрактите с най-висока антиоксидантна активност. Висока метал-хелатираща активност бе наблюдавана при екстракти на *J. sibirica* (0,83 mg DE/ml), докато най-ниската активност бе установена за *J. communis* (3,2 mg DE/ml). Установено бе също, че всички ефективни антиоксидантни екстракти инхибират ензима lipoxygenase. Стойностите на EC₅₀ варират от 1,77 до 2,44 mg DE/ml. Най-ефективните инхибитори са екстрактите от *J. ashei* и *J. formozana*, които действат като неконкурентни инхибитори на lipoxygenase (LOX). Получените резултати имат потенциално приложение във фармацията и козметиката за получаване на антиоксидантни средства на базата на природни съединения за предотвратяване на органо-дегенеративни заболявания, асоциирани с оксидативен стрес, рак или други заболявания, индуцирани от свободни радикали.

17. **Ivanova D.**, Korona-Głowniak I., Olech M., Malm A., Nowak R., Baj T., Tashev A., Angelov G.

Antimicrobial activity and chemical analyses of seven *Juniperus* L. species.

Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences, 2023, accepted

The objective of this study was to present a comparative analysis of the antimicrobial activity of methanolic leaf extracts from seven *Juniperus* L. species together with a tentative analysis of their total flavonoid and *o*-dihydroxyphenolic acids content. The chemical analyses were performed by colorimetric methods and the antimicrobial activity – by broth microdilution method. The studied extracts showed total content of *o*-dihydroxyphenols in the range of 26 to 34 µg caffeic acid/mg DE and total flavonoid content - 13 to 24 µg quercetin/mg DE. The sensitivity of Gram-positive bacteria to the studied extracts differed significantly with the following order of activity: *J. sabina* var. *balkanensis* > *J. communis* 'Laxa' > *J. formosana* > *J. pinchotii* > *J. ashei* > *J. excelsa*

≈*J. sibirica*. Weak activity was observed for all extracts against Gram-negative bacteria and *Candida* strains. The analysis of the MBC/MIC ratio showed that the extracts exhibited bactericidal effect against Gram-negative bacteria (MBC/MIC ≤ 4), while bactericidal or bacteriostatic action (MBC/MIC > 4) was determined towards Gram-positive bacteria. Moreover, these extracts showed fungicidal (MFC/MIC ≤ 4) or fungistatic effect (MFC/MIC > 4). Best antibacterial activity was registered for the *J. sabina* var. *balkanensis* leaf extract. The multivariate data analyses were carried out by SIMCA 16 (v16.0.2) software. The hierarchical cluster analysis and principal component analysis based on phytochemical and antimicrobial data classified the studied juniper species into four groups: (i) *J. ashei*, (ii) *J. excelsa*, *J. sibirica*, (iii) *J. sabina* var. *balkanensis*, *J. communis* Laxa, *J. formosana*, (iv) *J. pinchotii*.

Целта на това изследване е да се представи сравнителен анализ на антимикробната активност на метанолни екстракти от листа на седем вида от род *Juniperus* L., както и предварителен анализ на общото съдържание на флавоноиди и *o*-дихидроксифенолни киселини в екстрактите. Химичните анализи бяха проведени чрез колориметрични методи, а антимикробната активност - по метода на микротитруването. Изследваните екстракти показват общо съдържание на *o*-дихидроксифеноли в границите от 26 до 34 µg кафеена киселина/mg сух екстракт и общо съдържание на флавоноиди - 13 до 24 µg кверцетин/mg сух екстракт. Чувствителността на грам-положителните бактерии към изследваните екстракти се различава значително, като бе установен следният ред на активност: *J. sabina* var. *balkanensis* > *J. communis* 'Laxa' > *J. formosana* > *J. pinchotii* > *J. ashei* > *J. excelsa* ≈ *J. sibirica*. Слаба активност е наблюдавана при всички екстракти срещу Грам-отрицателни бактерии и щамове *Candida*. Анализът на съотношението MBC/MIC показва, че екстрактите проявяват бактерицидно действие спрямо грам-отрицателни бактерии (MBC/MIC ≤ 4), докато спрямо грам-положителни бактерии е установено бактерицидно или бактериостатично действие (MBC/MIC > 4). Освен това тези екстракти показват фунгициден (MFC/MIC ≤ 4) или фунгистатичен ефект (MFC/MIC > 4). Най-добра антибактериална активност е регистрирана за екстракта от листата на *J. sabina* var. *balkanensis*. Многовариантните анализи на данните бяха извършени чрез SIMCA 16 (v16.0.2) софтуер. Йерархичният клъстерен анализ и анализът на главните компоненти въз основа на фитохимичните и антимикробните данни класифицираха изследваните видове хвойна в четири групи: (i) *J. ashei*, (ii) *J. excelsa*, *J. sibirica*, (iii) *J. sabina* var. *balkanensis*, *J. communis* Laxa, *J. formosana*, (iv) *J. pinchotii*.

Публикации PhD дисертация

18. **Ivanova D**, Gaudon C, Rossin A, Bourget W, Gronemeyer H. RAR-RXR selectivity and biological activity of new retinoic acid analogues with heterocyclic or polycyclic aromatic systems.

Bioorganic and Medicinal Chemistry, **2002**,10(7), 2099-2102. *PhD-thesis*

[https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(02\)00083-4](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(02)00083-4)

The cell biological activity of novel retinoids and rexinoids is described. The stereochemistry of the new compounds was analyzed and ligand docking experiments revealed the structural basis of their RAR binding characteristics. The new ligands activate nuclear retinoic acid receptors (RAR, RXR) with distinct selectivity patterns, as determined in genetically engineered 'reporter' cells. The biological activity of the novel retinoids was assessed by differentiation of NB4 acute promyelocytic leukemia cells. Elsevier Science Ltd.

Описана е биологичната активност на нови ретиноиди (RAR-лиганди) и рексиноиди (RXR-лиганди). Стереохимията на новите съединения беше установена. Молекулно моделиране на свързването на лиганда (ретиноид или рексиноид) с рецептора разкриха структурните основи на свързването на лигандите с ретиноидните рецептори (RAR/RXR). Новите лиганди активират ядрените рецептори на ретиноевата киселина (RAR, RXR) с различна селективност, както бе установено чрез генетично модифицирани "репортерни" клетки. Биологичната активност на новите ретиноиди е оценена чрез индуциране на диференциация при NB4 клетки (остра промиелоцитна левкемия). Elsevier Science Ltd.

19. **Ivanova D**, Rossin A, Gronemeyer H, Valla A, Cartier D, Le Gillou R, Labia R. Structure-activity relationships of methylene or terminal side chain modified retinoids on the differentiation and cell death signaling in NB4 promyelocytic leukemia cells.

Bioorganic and Chemistry Letters, **2004**, 14(16), 4257-4261. *PhD-thesis*

<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.06.002>

New structure-activity relationships of a series of methylene or side chain modified retinoids on NB4 acute promyelocytic leukemia cells are investigated. The differentiation- and apoptosis-inducing potential of these compounds is analyzed on the basis of their selective retinoic acid receptor binding profile. Elsevier Ltd.

Изследвани са зависимости структура-активност на серия нови метиленови ретиноиди или ретиноиди с модифицирана странична верига след третиране на NB4 клетки (остра промиелоцитна левкемия). Способността на тези съединения да индуцират диференциация и апоптоза в ракови клетки е анализирана чрез селективността им на свързване с рецепторите на ретиноевата киселина. Elsevier Ltd.

20. Buttner M W, Burschka C, Daiss J O, **Ivanova D**, Rochel N, Kammerer S, Peluso-Iltis C, Bindler A, Gaudon C, Germain P, Moras D, Gronemeyer H, Tacke R. Silicon analogues of the retinoid agonists TTNPB and 3-methyl-TTNPB, disila-TTNPB and disila-3-methyl-TTNPB: Chemistry and biology.

ChemBioChem, **2007**, 8(14), 1688-1699. *PhD-thesis*

<https://doi.org/10.1002/cbic.200700182>

Twofold sila-substitution (C/Si exchange) in the saturated ring of the tetrahydronaphthalene skeleton of the retinoid agonists TTNPB (1 a) and 3-methyl-TTNPB (2 a) leads to disila-TTNPB (1 b) and disila-3-methyl-TTNPB (2 b), respectively. The silicon compounds 1 b and 2 b were synthesized in multiple steps, and their identities were established by elemental analyses, multinuclear NMR experiments, and single-crystal X-ray diffraction studies. Like TTNPB (1 a) and 3-methyl-TTNPB (2 a), the analogous silicon-based arotinoids 1 b and 2 b are strong pan-RAR agonists and display the same strong differentiation and apoptosis-inducing activity in NB4 promyelocytic leukemia cells as the parent carbon compounds. These results are in keeping with the nearly isomorphous structures of 1 a and 1 b bound to the complex of the RAR β ligand-binding domain with the nuclear receptor (NR) box 2 peptide of the SRC-1 coactivator. The contacts within the ligand-binding pocket are identical except for helix H11, for which two turns are shifted in the disila-TTNPB (1 b) complex. This study represents the first comprehensive structure-function analysis of a carbon/silicon switch in a signaling molecule and demonstrates that silicon analogues can have the same biological functionalities and conserved structures as

their parent carbon compounds, and it illustrates at the same time that silicon analogues of biologically active compounds have the potential to induce alternative allosteric effects, as in the case of helix H11, which might allow for novel options in drug design.

Двойното заместване на два С-атома с два Si-атома (C/Si обмен) в наситения пръстен на тетрахидронафталеновия скелет на ретиноидните агонисти ТТНПВ (1 а) и 3-метил-ТТНПВ (2 а) води съответно до дисила-ТТНПВ (1 b) и дисила-3-метил-ТТНПВ (2 b). Силициевите съединения 1 b и 2 b са синтезирани чрез многостадийен синтез и тяхната идентичност е установена чрез елементарен анализ, многоядрени ЯМР-спектрален анализ и single-crystal X-ray дифракция. Подобно на ТТНПВ (1 а) и 3-methyl-ТТНПВ (2 а), аналогичните силициеви аротиноиди 1 b и 2 b са ефективни пан-RAR агонисти и показват същата висока активност при индуциране на диференциация и апоптоза при NB4 клетки (остра промиелоцитна левкемия) като изходните въглеродни съединения. Тези резултати са в съответствие с почти изоморфните структури на 1 а и 1 b, свързани с комплекса, състоящ се от RAR β лиганд-свързващия домен и пептида на ядрения рецептор (NR), свързан с SRC-1 коактиватора (на гена, контролиращ синтеза на протеини, регулирани от съответния ядрен рецептор). Контактите на молекулите на ретиноидите с аминокиселините в лиганд-свързващия център са идентични, с изключение на контактите със спиралата H11, която е изместена в комплекса на disila-ТТНПВ (1 b) със съответния RAR β рецептор в сравнение с положението ѝ при свързване на С-аналог. Това изследване представлява първият цялостен структурно-функционален анализ на влиянието на замяната въглерод/силиций върху свързването на лиганд с ретиноиден рецептор и показва, че силициевите аналози могат да имат същите биологични функции като техните изходни въглеродни съединения. Резултатите илюстрират в същото време, че силициевите аналози на биоактивните съединения имат потенциала да индуцират алтернативни алостерични ефекти, както в случая с изместването на спирала H11, което дава нови възможности при дизайна на съответните потенциални лекарства.

21. Caselli E, Galvan M, Santoni F, Alvarez S, de Lera A, **Ivanova D**, Gronemeyer H, Caruso A, Guidoboni M, Cassai E, Dolcetti R, Di Luca D. Retinoic acid analogues inhibit human herpesvirus 8 replication.

Antiviral therapy, **2008**,13(2), 199-209. *PhD-thesis*

<https://doi.org/10.1177/135965350801300205>

Background: Retinoids have a pronounced antiviral effect against several viruses. In this study we aimed to investigate the effect of retinoids on human herpesvirus 8 (HHV-8).

Methods: A panel of retinoic acid compounds were tested for their antiviral activity against HHV-8 in human umbilical vascular endothelial cells (HUVECs) and in a human epithelial cell line. The presence, transcription and antigen expression of HHV-8 in infected cells - in the presence or absence of retinoic acid compounds - were evaluated by PCR, reverse transcriptase PCR and immunofluorescence assays; HHV-8 viral load was determined by real-time quantitative PCR. Angiogenesis induced by HHV-8 was also assessed using Cultrex basement membrane extract.

Results: The compounds tested specifically inhibited viral promoters, during the early and late phases of infection in both cell systems tested, and resulted in up to 100-fold reduction of viral titre and release of progeny virus. The inhibition of viral replication induced by retinoids in

endothelial cells, the primary target of HHV-8-driven transformation in Kaposi's Sarcoma, prevented endothelial cells from developing spindle morphology and in vitro tube formation, characteristic changes associated with HHV-8 infection and transformation.

Conclusions: We show that retinoids inhibit HHV-8 replication and identify new retinoid compounds with a strong antiviral effect. Selective retinoids, particularly those with retinoic acid receptor agonist activity, may be good candidates for the development of antiviral drugs.

Предварителни изследвания: Ретиноидите имат изразен ефект срещу няколко вируса. В това проучване имахме за цел да изследваме ефекта на ретиноидите върху човешкия херпес вирус 8 (HHV-8).

Методи: Аналози на ретиноевата киселина са тествани за тяхната антивирусна активност към HHV-8 в HUVEC (human umbilical vascular endothelial) клетки и епителна клетъчна линия. Наличието на HHV-8, вирусната транскрипция и антигенна експресия в инфектирани клетки - в присъствие или отсъствие на аналози на ретиноевата киселина - са оценени чрез PCR, reverse transcriptase PCR и имунофлуоресцентни анализи; наличието на HHV-8 е определено чрез количествена PCR в реално време. Ангиогенезата, индуцирана от HHV-8, е оценена чрез Cultrex basement membrane extract.

Резултати: Тестваните съединения инхибират вирусните промотори по време на ранната и късната фаза на инфекция в двете тествани клетъчни системи и водят до 100-кратно намаляване на вирусния титър и освобождаване на вируса. Инхибирането на вирусната репликация, индуцирана от ретиноидите в ендотелните клетки, което е основната мишена на трансформацията, индуцирана от HHV-8 при саркома на Капоши, предотвратява развитието на морфологията на ендотелните клетки, което е характерна промяна, свързана с трансформациите, индуцирани от инфекцията с HHV-8.

Изводи: Установено е, че ретиноидите инхибират репликацията на HHV-8, като са идентифицирани нови ретиноидни съединения със силен антивирусен ефект. Селективните ретиноиди, особено тези с агонистична активност спрямо рецепторите на ретиноевата киселина, могат да бъдат използвани при разработването на антивирусни лекарства.