

**Резюмета на публикациите
на доц. д-р Ивайла Недялкова Панчева-Кадрева**

за участие в конкурс за академична длъжност „професор“,
професионално направление 4.2. Химически науки
(Аналитична химия)

I. Публикации в научни списания

1. J. Ivanova, I. N. Pantcheva, M. Mitewa, S. Simova*, M. Tanabe, K. Osakada, Cd(II) and Pb(II) complexes of the polyether ionophorous antibiotic salinomycin, *Chem. Centr. J.* 5 (2011) 52

doi:10.1186/1752-153X-5-52 – Q2

Abstract: Background: The natural polyether ionophorous antibiotics are used for the treatment of coccidiosis in poultry and ruminants. They are effective agents against infections caused by Gram-positive microorganisms. On the other hand, it was found that some of these compounds selectively bind lead(II) ions in *in vivo* experiments, despite Pb(II)-containing compounds of defined composition have been not isolated and characterized. To assess the potential of polyether ionophores to be used as antidotes in the agriculture, a detailed study on their *in vitro* complexation with toxic metal ions is required. In the present paper we report for the first time the preparation and the structure elucidation of salinomycin complexes with ions of cadmium(II) and lead(II). **Results:** New metal(II) complexes of the polyether ionophorous antibiotic salinomycin with Cd(II) and Pb(II) ions were prepared and structurally characterized by IR, FAB-MS and NMR techniques. The spectroscopic information and elemental analysis data reveal that sodium salinomycin (SalNa) undergoes a reaction with heavy metal(II) ions to form [Cd(Sal)₂(H₂O)₂] (**1**) and [Pb(Sal)(NO₃)] (**2**), respectively. Abstraction of sodium ions from the cavity of the antibiotic is occurring during the complexation reaction. Salinomycin coordinates with cadmium(II) ions as a bidentate monoanionic ligand through the deprotonated carboxylic moiety and one of the hydroxyl groups to yield **1**. Two salinomycin anions occupy the equatorial plane of the Cd(II) center, while two water molecules take the axial positions of the inner coordination sphere of the metal(II) cation. Complex **2** consists of monoanionic salinomycin acting in polydentate coordination mode in a molar ratio of 1 : 1 to the metal ion with one nitrate ion for charge compensation. **Conclusion:** The formation of the salinomycin heavy metal(II) complexes indicates a possible antidote activity of the ligand in case of chronic/acute intoxications likely to occur in the stock farming.

Резюме: Обзор: Природните полиетерни йонофорни антибиотици се използват за лечение на кокцидиоза при домашни птици и преживни животни. Те са ефективни агенти срещу инфекции, причинени от Грам-положителни микроорганизми. От друга страна е установено, че някои от тези съединения селективно свързват оловни(II) йони в експерименти *in vivo*, въпреки че съединения с йони на Pb(II) с дефиниран състав не са изолирани и охарактеризирани. За да се оцени потенциалът на полиетерните йонофори да се прилагат като антидоти в селското стопанство, е необходимо подробно проучване на тяхното *in vitro* комплексобразуване с токсични метални йони. В настоящото изследване за първи път докладваме получаването и структурното охарактеризиране на комплекси на Салиномицин с йони на кадмий(II) и олово(II). **Резултати:** Изолирани са нови метални(II) комплекси на полиетерния йонофорен антибиотик Салиномицин с йони на Cd(II) и Pb(II), които са структурно характеризирани с IR, FAB-MS и NMR. Спектралните данни и елементният анализ показват, че натриевият салиномицинат (SalNa) реагира с йони на тежките метали, образувайки [Cd(Sal)₂(H₂O)₂] (**1**) и [Pb(Sal)(NO₃)] (**2**). При

комплексообразуването се наблюдава извличане на натриевите йони от кухнята на антибиотика. Салиномицин координира с кадмиеви(II) йони (1) под формата на бидентатен моноанионен лиганд чрез депротонирана карбоксилна група и една от хидроксилните групи. Два салиномицинатни аниони заемат екваториалната равнина на комплексообразувателя Cd(II), докато две водни молекули са разположени в аксиална позиция във вътрешната координационна сфера на металния(II) катион. Комплекс 2 съдържа моноанионен Салиномицинат, действащ полидентатно в молно съотношение 1:1 спрямо металния йон. Един нитратен йон компенсира заряда на получения комплекс. **Заключение:** образуването на салиномицинатни комплекси с йони(II) на тежки метали създава условия за възможна антидотна активност на лиганда в случай на хронични / остри интоксикации, които могат да възникнат в животновъдството.

2. R. I. Alexandrova, T. Zhivkova, M. Alexandrov, G. Miloshev, M. Georgieva, I. N. Pantcheva*, M. Io. Mitewa, Cytostatic and cytotoxic properties of monensic acid and its biometal(II) complexes against human tumor / non-tumor cell lines, *Cent. Eur. J. Chem.* **10(5)** (2012) 1464-1474

doi: 10.2478/s11532-012-0071-9 – Q2

Abstract: The anticancer activity of monensic acid (MonH) and its biometal(II) complexes $[M(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ($M = \text{Mg, Ca, Mn, Co, Ni, Zn}$) was evaluated against cultured human permanent cell lines established from glioblastoma multiforme (8MGBA) and cancers of the lung (A549), breast (MCF-7), uterine cervix (HeLa) and liver (HepG2). The viability and proliferation of the non-tumor human embryonic cell line Lep3 was also tested. The investigations were carried out using thiazolyl blue tetrazolium bromide test, neutral red uptake cytotoxicity assay, crystal violet staining, colony forming method and double staining with acridin orange and propidium iodide. The results obtained reveal that the compounds applied at concentrations of 0.5-25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for 24-72 h decrease the viability and proliferation of the treated cells in a time- and concentration-dependent manner. The metal(II) complexes studied (especially those of Co(II), Ni(II) and Zn(II)) has been found to express stronger cytotoxic and cytostatic activities than the non-coordinated monensic acid. The non-tumor human cell line has shown strong chemosensitivity towards compounds tested comparable to that of cultured human tumor cell lines.

Резюме: Антитуморната активност на Монензин киселина (MonH) и нейните комплекси с двузарядни йони на биометалите $[M(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ($M = \text{Mg, Ca, Mn, Co, Ni, Zn}$) е оценена спрямо култивирани човешки клетъчни линии от мултиформен глиобластом (8MGBA) и рак на белия дроб (A549), на гърдата (MCF-7), на шийката на матката (HeLa) и на черния дроб (HepG2). Тест за жизнеспособността и пролиферацията на нетуморната човешка ембрионална клетъчна линия Lep3 също е проведен. Изследванията са извършени с МТТ тест, включване на неутрално червено, оцветяване с кристал виолет, образуване на колонии и двойно оцветяване с акридин оранж / пропидиев йодид. Получените резултати показват, че съединенията, прилагани в концентрации 0,5-25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ за 24-72 h, намаляват жизнеспособността и пролиферацията на третираните клетки във времева и концентрационна зависимост. Установено е, че изследваните метални(II) комплекси (особено тези на Co(II), Ni(II) и Zn(II)) показват по-силна цитотоксична и цитостатична активност в сравнение с некоординираната Монензин киселина. Нетуморната човешка клетъчна линия е силно чувствителна към тестваните съединения, сравнима с тази на култивираните човешки туморни клетъчни линии.

3. I. N. Pantcheva*, R. I. Alexandrova, T. Zhivkova, M. Io. Mitewa, *In vitro* activity of biometal(II) complexes of monensin against virus-induced transplantable animal tumors, *Biotechnol. Biotec. Eq.* **27(2)** (2013) 3703-3708

doi:10.5504/BBEQ.2012.0088 – Q3

Abstract: The anticancer properties of monensic acid (MonH) and its complexes with ions of Mg(II), Ca(II), Mn(II) and Co(II) were studied in cultured permanent cell lines originated from virus-induced transplantable tumors in chicken (hepatoma, LSCC-SF-Mc29) and in rat (sarcoma, LSR-SF-SR). The short-term experiments in monolayer adherent cells were performed by thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) test (hepatoma and sarcoma cell lines) and neutral red (NR) uptake cytotoxicity assay (sarcoma cell line). The effect of monensin and corresponding complexes on colony-forming ability of tumor cells was also evaluated. From the results obtained it can be concluded that all compounds decrease significantly the viability and proliferation of the treated cells in a time- and concentration-dependent manner, with metal(II) complexes being more effective than the non-coordinated ligand.

Резюме: Антитуморните свойства на Монензин киселина (MonH) и нейните комплекси с йони на Mg(II), Ca(II), Mn(II) и Co (II) са изследвани срещу култивирани постоянни клетъчни линии, произхождащи от вирус-индуцирани трансплантируеми тумори при пиле (хепатом, LSCC-SF-Mc29) и плъх (саркома, LSR-SF-SR). Краткотрайните експерименти в монослойни адхезивни клетки са извършени чрез МТТ тест (клетъчни линии на хепатом и саркома) и включване на неутрално червено (NR) (клетъчна линия на саркома). Ефектът на Монензин и съответните комплекси върху колонии-образуващата способност на туморните клетки също беше оценен. От получените резултати може да се заключи, че всички съединения намаляват значително жизнеспособността и пролиферацията на третираните клетки по времево- и концентрационно-зависим начин, като металните(II) комплекси са по-ефективни от некоординирания лиганд.

4. D. Momekova*, G. Momekov, J. Ivanova, I. Pantcheva, E. Drakalska, N. Stoyanov, M. Guenova, A. Michova, K. Balashev, S. Arpadjan, M. Mitewa, S. Rangelov, N. Lambov, Sterically stabilized liposomes as a platform for salinomycin metal coordination compounds: physicochemical characterization and *in vitro* evaluation, *J. Drug Deliv. Sci. Techn.* **23(3)** (2013) 215-223

doi:10.1016/S1773-2247(13)50033-5 – Q2

Abstract: Sterically stabilized DPPC:CHOL:DSPE-PEG-2000 liposomal formulations of the lipophilic complexes of salinomycin with Na(I), K(I), Mn(II), Co(II), and Ni(II) ions were prepared by film-hydration method, at different drug-to-DPPC molar ratios. For the K(I) and Na(I) complexes optimal loading was established at a drug-to-DPPC molar ratio of 0.5:1, whereas for the Me(II) complexes it was encountered at 0.1:1. DLS revealed uniform LUV populations (130-160 nm) with monomodal size-distribution, further corroborated by AFM. Free and entrapped salinomycinates exhibited cytotoxicity in three human tumor cell lines, whereby the liposomal agents were superior *vs.* free complexes. DNA-fragmentation and flow cytometric assays showed that the cytotoxicity of free and liposomal salinomycinates is mediated by induction of apoptosis and G₁ arrest. The ability of the carriers to retain the bio- activity of entrapped cargo gives us reason to conclude that the presented DPPC:CHOL:DSPE-PEG-2000 liposomes are suitable platforms for the salinomycin complexes, needing further evaluation and optimization.

Резюме: Стерично стабилизираните DPPC:CHOL:DSPE-PEG-2000 липозомни състави на липофилните комплекси на салиномицин с Na(I), K(I), Mn(II), Co(II) и Ni(II) са получени чрез филмова хидратация при различни молни съотношения лекарство-DPPC. За комплексите с йони на K(I) и Na(I) оптималното натоварване е установено при молно съотношение лекарство:DPPC 0,5: 1, докато за комплексите с йони на M(II) то е 0,1:1. DLS анализът показва еднакви LUV популации (130-160 nm) с мономодално разпределение на размера, потвърдено от AFM изследвания. Комплексите и липозомните салиномицинати проявяват цитотоксичност при три човешки туморни клетъчни линии, като включването на липозомни агенти потенцира ефекта на салиномицин. ДНК-фрагментацията и цитометричните изследвания показват, че цитотоксичността на изследваните

съединения се медира чрез индукция на апоптоза и спиране на G1-фазата. Способността на преносителите да поддържат биоактивността на лиганда ни дава основание да заключим, че получените DPPC:CHOL:DSPE-PEG-2000 липозоми са подходящи платформи за салиномициновите комплекси, но се нуждаят от допълнителна оценка и оптимизация.

5. V. N. Atanasov*, S. S. Stoykova, H. N. Kolev, M. Io. Mitewa, S. D. Petrova, **I. N. Pantcheva***, Effect of some divalent metal ions on enzymatic activity of secreted phospholipase A₂ (sPLA₂) isolated from Bulgarian *Vipera ammodytes meridionalis*, *Biotechnol. Biotec. Eq.* **27(5)** (2013) 4181-4185

doi:10.5504/BBEQ.2013.0072 – Q3

Abstract: The effect of Ca²⁺ and some related to it divalent metal ions (Mg, Sr, Ba, Cd) on hydrolysis of natural and artificial substrates catalyzed by vipoxin's secreted phospholipase A₂ subunit (sPLA₂) was evaluated. The results showed that hydrolysis of natural glycerophospholipids proceeds at highest degree when the enzyme is activated by calcium ions. The catalytic activity of sPLA₂ decreases in presence of other metal ions possibly due to their lower coordination ability to the head group of lipids. In opposite, the hydrolysis of artificial substrate is facilitated by metal ions having ionic radii larger than Ca²⁺, as Sr²⁺ and Ba²⁺, suggesting that not only the interaction with metal cations, but also the origin of head group should be considered. The fluorescence assay revealed that the conformation changes occur during coordination of metal ions into the catalytic site of sPLA₂ prior to subsequent hydrolysis. It can be concluded that the rate-limiting step in the catalytic cycle (e.g. the chemical interaction) is not completely adequate to evaluate all factors affecting the hydrolytic activity of vipoxin's sPLA₂.

Резюме: Изследван е ефектът на йони на Ca²⁺ и някои свързани с тях двузрядни метални йони (Mg, Sr, Ba, Cd) върху хидролизата на естествени и изкуствени субстрати, катализирани от секретираната от випоксин субединица фосфолипаза A₂ (sPLA₂). Резултатите показват, че хидролизата на естествените глицерофосфолипиди протича в най-висока степен, когато ензимът се активира от калциеви йони. Каталитичната активност на sPLA₂ намалява в присъствието на други метални йони, вероятно поради по-ниската им координационна способност спрямо „главата“ на липидите. Обратно, хидролизата на изкуствения субстрат се улеснява от метални йони, притежаващи йонни радиуси, по-големи от Ca²⁺, като Sr²⁺ и Ba²⁺, което предполага, че трябва да се отчете не само взаимодействието с металните катиони, но и произхода на „главата“. Флуоресцентният анализ показва, че промените в конформацията настъпват по време на координацията на метални йони в каталитичния център на sPLA₂ преди последващата хидролиза. Може да се заключи, че етапът, ограничаващ скоростта в каталитичния цикъл (например химическо взаимодействие), не е напълно адекватен за оценка на всички фактори, влияещи върху хидролизната активност на sPLA₂, изолиран от випоксин.

6. R. Zhorova*, M. Marina, A. Radeva, M. Io. Mitewa, **I. N. Pantcheva***, Cytotoxicity of Monensic acid and its biometal(II) complexes against anaerobic bacterial strain *Clostridium perfringens* spp., *Biotechn. & Biotechn. Equipmn.* **27(6)** (2013) 4308-4310

doi: 10.5504/BBEQ.2013.0093 – Q3

Abstract: The cytotoxic properties of monensic acid (MonH) and its biometal(II) complexes [M(Mon)₂(H₂O)₂] (M = Mg, Ca, Mn, Co, Ni, Zn) against the Gram-positive anaerobic bacteria *Clostridium perfringens* spp. are reported. All monensin complexes studied possess similar structures, but their activity varies in the concentration range from 0.17 μmol/L to 11.90 μmol/L. Biometal(II) complexes improve the properties of monensic acid in *in vitro* experiments

suggesting their possible practical application as more effective antibacterial agents than the non-coordinated antibiotic.

Резюме: Изследвани са цитотоксичните свойства на Монензин киселина (MonH) и нейните комплекси $[M(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ($M = \text{Mg}, \text{Ca}, \text{Mn}, \text{Co}, \text{Ni}, \text{Zn}$) спрямо Грамположителната анаеробна бактерия *Clostridium perfringens* spp. Монензинатните комплекси притежават сходни структури, но тяхната активност варира в диапазона от 0,17 $\mu\text{mol/L}$ до 11,90 $\mu\text{mol/L}$. Комплексите с йони на биометалите подобряват свойствата на Монензин киселина в *in vitro* експерименти, което предполага евентуалното им практическо приложение като по-ефективни антибактериални средства от некоординирания антибиотик.

7. S. Stoykova*, Y. Goranova, I. N. Pantcheva, V. Atanasov, D. Danchev, S. Petrova, Hemolytic activity and platelet aggregation inhibitory effect of vipoxin's basic sPLA₂ subunit, *Interdisc. Toxicology* **6(3)** (2013) 136-140

doi:10.2478/intox-2013-0021 - Q3

Abstract: In the present study, we evaluated the effect of secreted phospholipase A₂ (sPLA₂) (the toxic subunit of the heterodimeric neurotoxin vipoxin, isolated from Bulgarian long-nosed viper *Vipera ammodytes meridionalis*) on hemolysis, erythrocyte's morphology and platelet aggregation. Hemolytic activity of sPLA₂ was examined in the presence of saturated (palmitic) and unsaturated (oleic) fatty acids and it was found that oleic acid increases sPLA₂ hemolytic activity in a concentration-dependent manner compared to the effect of palmitic acid and controls. The addition of heparin to red blood cells (RBC) suspension containing sPLA₂ or mixture of sPLA₂ and corresponding fatty acid lead to an inhibition of hemolytic activity. The effect of sPLA₂ on morphology of RBC resulted in formation of echinocytes (spherocyte's subtype) suggesting that RBC could be the possible targets attacked by vipoxin's sPLA₂ subunit. Vipoxin sPLA₂ inhibited (in a dose-dependent manner) platelet aggregation when arachidonic acid and collagen were used as inducers while, in the case of ADP, its inhibitory effect was inappreciable.

Резюме: В настоящото изследване е оценен ефектът на секретирания фосфолипаза A₂ (sPLA₂) (токсична субединица на хетеродимерния невротоксин випоксин, изолиран от българската усойница *Vipera ammodytes meridionalis*) върху хемолизата, морфологията на еритроцитите и агрегацията на тромбоцитите. Хемолитичната активност на sPLA₂ бе изследвана в присъствието на наситени (палмитинови) и ненаситени (олеинови) мастни киселини и бе установено, че олеиновата киселина повишава хемолитичната активност на sPLA₂ в зависимост от концентрацията в сравнение с ефекта на палмитиновата киселина и контролите. Добавянето на хепарин към суспензия от червени кръвни клетки (RBC), съдържаща sPLA₂ или смес от sPLA₂ и съответната мастна киселина, води до инхибиране на хемолитичната активност. Ефектът на sPLA₂ върху морфологията на RBC предизвиква образуването на ехиноцити, което предполага, че RBC е евентуална мишена, атакувана от sPLA₂ субединицата на випоксин. Випоксиновата sPLA₂ инхибира (дозо-зависимо) агрегацията на тромбоцитите, когато арахидоновата киселина и колагенът се използват като индуциращи агенти, докато в случая на ADP инхибиращият ефект е изключително нисък.

8. V. N. Atanasov, S. S. Stoykova, Y. A. Goranova, A. N. Nedzhib, L. P. Tancheva, Ju. M. Ivanova, I. N. Pantcheva*, Preliminary study on *in vivo* toxicity of monensin, salinomycin and their metal complexes, *Bulg. Chem. Comm.* **46(2)** (2014) 236-239

Abstract: The acute toxicity of the polyether ionophores monensin, salinomycin and their metal complexes with Na(I), Mg(II), Ca(II), Mn(II), Co(II), Zn(II) was evaluated in mice. The experimental data revealed that Ca(II) and Mg(II) complexes of salinomycin display the highest

toxicity among the compounds tested, with LD50 values of 20.5 mg/kg b.w. (13 $\mu\text{mol/kg}$ b.w.) and 25.8 mg/kg b.w. (17 $\mu\text{mol/kg}$ b.w.), respectively. The preliminary evaluation of biochemical indices of survived animals showed that no significant changes occur within a three-day treatment with ionophorous antibiotics and their complexes

Резюме: Острата токсичност на полиетерите йонофори монензин, салиномицин и техните метални комплекси с Na(I), Mg(II), Ca(II), Mn(II), Co(II), Zn(II) е оценена при мишки. Експерименталните данни показват, че Ca(II) и Mg(II) комплекси на салиномицин са с най-висока токсичност сред тестваните съединения, със стойности на LD₅₀ от 20,5 mg/kg ж.т. (13 $\mu\text{mol/kg}$ ж.т.) и 25.8 mg/kg ж.т. (17 $\mu\text{mol/kg}$ ж.т.), съответно. Предварителната оценка на биохимичните показатели на оцелелите животни показва, че не се наблюдават значителни промени в рамките на тридневно третиране с йонофорните антибиотици и техните комплекси.

9. A. Nedzhib*, S. Stoykova, V. Atanasov, I. N. Pantcheva, L. Antonov, Pd(II) complexes of acetylcholinesterase reactivator Obidoxime, *Interdisc. Toxicology* **7(3)** (2014) 139-145
doi:10.2478/intox-2014-0019 – Q3

Abstract: The ability of acetylcholinesterase reactivator obidoxime (H_2L^{2+}) to bind palladium(II) cations was evaluated spectrophotometrically at different reaction conditions (pH, reaction time, metal-to-ligand molar ratio). The results showed that immediately after mixing the reagents, complex species of composition $[\text{PdHL}]^{3+}$ predominantly exist at pH 7.4 with a value of conditional stability constant $\lg \beta' = 6.52$. The reaction was completed within 24 hours affording the formation of species $[\text{Pd}_2\text{L}]^{4+}$ with significantly increased stability ($\lg \beta' = 9.34$). The spectral data suggest that obidoxime coordinates metal(II) ions through the oximate functional groups. The *in vitro* reactivation assay of paraoxon-inhibited rat brain acetylcholinesterase revealed that the new complex species were much less active than the non-coordinated obidoxime. The lack of reactivation ability could be explained by the considerable stability of complexes in solution as well as by the deprotonation of oxime groups essential for recovery of the enzymatic activity.

Резюме: Способността на реактиватора на ацетилхолинестераза - обидоксим (H_2L^{2+}) да взаимодейства с катиони на паладий(II) бе оценена спектрофотометрично при различни реакционни условия (рН, време на реакция, молно съотношение метал - лиганд). Резултатите показват, че при рН 7,4 веднага след смесването на реагентите, се образуват комплексни частици със състав $[\text{PdHL}]^{3+}$ и условна стабилитетна константа $\lg \beta' = 6,52$. Реакцията протича в рамките на 24 часа с образуването на комплекса $[\text{Pd}_2\text{L}]^{4+}$, който е със значително повишена стабилност ($\lg \beta' = 9.34$). Спектралните данни предполагат, че обидоксимът координира металните(II) йони чрез оксиматните функционални групи. Тестът за *in vitro* реактивация на инхибирана с параоксон мозъчна ацетилхолинестераза от плъхове показва, че новите комплексни частици са с много по-ниска активност от некоординирания обидоксим. Липсата на реактивираща способност вероятно се дължи на значителната стабилност на комплексите в разтвор, както и на депротонирането на оксимните групи, необходими за възстановяване на ензимната активност.

10. S. Stoykova*, V. Atanasov, I. Pantcheva, Determination of some biochemical parameters in oral fluid and evaluation of their stability at different storage conditions, *Toxicol. Anal. Clin.* **27(3)** (2015) 195-202

doi:10.1016/j.toxac.2015.03.111 – Q4

Abstract: Oral fluid (OF) is a complex liquid secretion, which can be collected painlessly, rapidly and non-invasively by low trained persons. The sample collection could be supervised without disturbing objects providing it. Recently OF has attracted clinical and forensic toxicologists attention due to its application as an alternative biological specimen of the blood that

can provide an estimation of exposure to drugs of abuse. The present research is aimed to the characterization of OF specimen in order to determine suitable parameters as markers for its identity / dilution. Further study on the effects of storage temperature, additives presence and storage period on sample stability was also performed. The data obtained revealed that the protein profile and the α -amylase activity can be used as markers of OF samples identity, while creatinine levels could serve as an indicator for dilution / stability of oral fluid. The experimental results showed that creatinine concentration depends on storage conditions. The sample storage at 4°C for a month leads to increasing of creatinine levels up to 50%; the process is partially inhibited by the presence of Na₂EDTA or NaN₃ and the amount of creatinine increases up to 10% as compared to the initial value. The storage of samples at -20°C for a month leads to significant decrease of initial creatinine concentration even in the presence of stabilizer / preservative.

Резюме: Оралната течност (ОТ) е комплексен течен секрет, който може да се взема безболезнено, бързо и неинвазивно от ниско обучени лица. Събирането на пробите може да бъде контролирано без да се обезпокояват субектите. В последно време ОТ привлича вниманието на клиничните и съдебните токсиколози поради използването ѝ като алтернативен биологичен образец на кръвта, който може да осигури оценка на експозицията на наркотици при злоупотреба. Настоящото изследване е насочено към охарактеризиране на проба ОТ, за да се определят подходящи параметри като маркери за нейната идентичност / разреждане. Проведено е и допълнително проучване на влиянието на температурата на съхранение, наличието на добавки и периода на съхранение върху стабилността на пробата. Получените данни показват, че протеиновият профил и α -амилазната активност могат да бъдат използвани като маркери за идентичност на пробите ОТ, докато нивата на креатинин могат да служат като индикатор за разреждане / стабилност на оралната течност. Експерименталните резултати показват, че концентрацията на креатинин зависи от условията на съхранение. Съхраняването на пробата при 4°C за един месец води до повишаване на нивата на креатинин до 50%; процесът е частично инхибиран от присъствието на Na₂EDTA или NaN₃ и количеството на креатинин се увеличава до 10% в сравнение с първоначалната стойност. Съхраняването на пробите при -20°C за един месец води до значително намаляване на началната концентрация на креатинин, дори в присъствието на стабилизатор / консервант.

11. A. Nedzhib, J. Kessler, P. Bour*, B. Gyurcsik, I. Pantcheva*, Circular dichroism is sensitive to monovalent cation binding in Monensin complexes, *Chirality* **28(5)** (2016) 420-428

doi: 10.1002/chir.22597 – Q2

Abstract: Monensin is a natural antibiotic that exhibits high affinity to certain metal ions. In order to explore its potential in coordination chemistry, circular dichroism spectra of Monensin acid A (MonH) and its derivatives containing monovalent cations (Li⁺, Na⁺, K⁺, Rb⁺, Ag⁺ and Et₄N⁺) in methanolic solutions were measured and compared to computational models. Whereas the conventional CD spectroscopy (CD) allowed recording of the transitions down to 192 nm, synchrotron radiation circular dichroism (SRCD) revealed other bands in the 178-192 nm wavelength range. CD signs and intensities significantly varied in the studied compounds, in spite of their similar crystal structure. Computational modelling based on the density functional theory (DFT) and continuum solvent model suggests that the solid state Monensin structure is largely conserved in the solutions as well. Time-dependent density functional theory (TDDFT) simulations did not allow band-to-band comparison with experimental spectra due to their limited precision, but indicate that the spectral changes are caused by a combination of minor conformational changes upon the monovalent cation binding and a direct involvement of the metal electrons in Monensin electronic transitions. Both the experiment and simulations thus show that the CD spectra of Monensin complexes are very sensitive to the captured ions and can be used for their discrimination.

Резюме: Монензин е природен антибиотик, който проявява висок афинитет към определени метални йони. За да се изследва потенциалът му в координационната химия, бяха регистрирани и сравнени с изчислителни модели кръговите дихроични спектри на монензин киселина А (MonH) и нейните производни, съдържащи едновалентни катиони (Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Ag^+ и Et_4N^+) в метанолови разтвори. За разлика от конвенционалната CD спектроскопия, която позволява наблюдаване на преходи до 192 nm, кръговият дихроизъм със синхротронно лъчение (SRCD) позволява регистриране на допълнителни ивици в интервала 178-192 nm. Знакът и интензитетът на CD-ивиците значително варират в изследваните съединения въпреки сходната им кристална структура. Компютърното моделиране, базирано на теорията на функционала на плътността (DFT) и модела на имплицитния разтворител, предполага, че твърдото състояние на структурата на Монензин се запазва до голяма степен и в разтвор. Времево-зависимата теория на функционала на плътността (TDDFT) не позволява сравнение на теоретичните и експериментални спектри поради тяхната ограничена точност, но показват, че спектралните промени са резултат от комбинация от малки конформационни промени в лиганда при свързване на едновалентните катиони и пряко участие на електрони от металния йон в електронните преходи на Монензин. Както експериментът, така и симулациите, показват, че CD спектрите на моновалентните метални комплекси са много чувствителни към координиращите катиони и могат да бъдат използвани за тяхното различаване.

12. S. Stoykova*, K. Kanev, I. Pantcheva, V. Atanasov, Isolation and characterization of drugs of abuse in oral fluid by a novel preconcentration protocol, *Anal. Lett.* **49**(17) (2016) 2822-2832

doi:10.1080/00032719.2016.1155594 – Q3

Abstract: Oral fluid is a sample of increasing interest as an alternative matrix to blood in preliminary screening of drugs of abuse. Dried oral fluid spot analogously to dried blood spot could be applied as a suitable technique for simple sampling, storage and transportation as well as exclusion of enzymatic and hydrolytic degradation of analytes. The purpose of present study was to optimize drug extraction procedure from oral fluid and its dried spot, and to evaluate the applicability of dried spot technique for detection of illicit drugs. The efficiency of extraction protocol was assessed using standard mixture of tested drugs and pooled oral fluid sample spiked with amphetamine, methamphetamine, 3,4-methylenedioxy-methamphetamine, Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cocaine, morphine, methadone and clonazepam. Results indicate that simultaneous extraction of illicit drugs can be achieved by ethyl acetate in presence of NaOH. This extraction procedure was applied for sample preparation of dried matrix with pre-treatment of the spot using methanol and HCl to ensure acceptable level of drug recovery (> 70%) to certify recent usage of illicit drugs for forensic purposes. Applicability of the protocol was confirmed using oral fluid samples provided by subjects reaffirming recent usage of illicit drugs. Results showed that presence of drugs of abuse in oral fluid specimen can be evaluated using dried spot technique which is a promising alternative to liquid sample.

Резюме: Оралната течност е проба с нарастващ интерес като алтернативна матрица на кръвта при предварителен скрининг за лекарствена злоупотреба. Сухото орално петно, аналогично на сухото кръвно петно, може да се използва като подходяща проба за съхранение и транспортиране, както и за елиминиране на ензимно и хидролизно разграждане на анализите. Целта на настоящото проучване е да се оптимизира процедурата за извличане на наркотици от оралната течност и съответното сухо петно, както и да се оцени приложимостта на техниката за сухи петна с цел откриване на забранени субстанции. Ефективността на екстракционния протокол е оценена с помощта на стандартна смес от тестовани лекарства и сборна проба орална течност, съдържаща амфетамин, метамфетамин, 3,4-метилendioкси-метамфетамин, Δ^9 -тетрахидроканобинол,

кокаин, морфин, метадон и клоназепам. Резултатите показват, че едновременно извличане на забранените вещества може да се постигне чрез етилацетат в присъствие на NaOH. Тази екстракционна процедура се прилага за приготвяне на разтвори от сухата матрица след предварителна обработка с метанол и HCl, което осигурява приемливо ниво на извличане на субстанциите (> 70%) и потвърждава скорошна употреба на забранените вещества за съдебни цели. Приложимостта на протокола е потвърдена чрез използване на проби орална течност, предоставени от субекти, потвърдили скорошната употреба на забранени субстанции. Резултатите показваха, че наличието на лекарствена злоупотреба в пробата с орална течност може да бъде оценено чрез техниката на сухото петно, която е обещаваща алтернатива на течната проба.

13. I. Pantcheva*, A. Nedzhib, L. Antonov, Oxime-containing acetylcholinesterase reactivators and their complexes with Pd(II) and Pt(II) ions - recent developments, *Turk. J. Chem.* **42** (2018) 418-428

doi:10.3906/kim-1706-23 – Q3

Abstract: The ability of oxime-containing acetylcholinesterase reactivators BT-07 (K005), BT-08 (K033), BT-07-4M (K074) and Obidoxime (H_2LX_2 , X = Cl⁻, Br⁻) to bind palladium(II) or platinum(II) cations was evaluated in aqueous solutions (pH 7.4) at metal-to-ligand molar ratio varying from 1:10 to 10:1. Spectral changes were monitored within a week after mixing the reagents in the range from 220 nm to 500 nm. Results showed that depending on chemical structure and reaction time, oximes form two complex species of composition $[MHL]^{3+}$ or $[M_2L]^{4+}$ (M = Pd(II), Pt(II)). It was also found that complexation of platinum(II) ions proceeds slower as compared to palladium(II). Conditional stability constants of new complex species were determined spectrophotometrically using advanced chemometric procedure, based on resolution of overlapping bands technique.

Резюме: Способността на оксим-съдържащите ацетилхолинестеразни реактиватори BT-07 (K005), BT-08 (K033), BT-07-4M (K074) и Obidoxime (H_2LX_2 , X = Cl⁻, Br⁻) да свързват паладиеви(II) или платинови(II) катиони е оценена във водни разтвори (pH 7.4) при молно съотношение метал - лиганд, вариращо от 1:10 до 10:1. Спектралните промени са наблюдавани в рамките на седмица след смесване на реагентите в диапазона от 220 nm до 500 nm. Резултатите показват, че, в зависимост от химичната структура и времето на реакция, оксимите образуват две комплексни частици със състав $[MHL]^{3+}$ или $[M_2L]^{4+}$ (M = Pd(II), Pt(II)). Освен това е установено, че комплексообразуването на платинови(II) йони протича по-бавно в сравнение с паладиевите(II). Условните стабилитетни константи на новите комплексни частици са определени спектрофотометрично с помощта на усъвършенствана хемометрична процедура, основана на разделяне на взаимно припокриващи се ивици.

14. S. Stoykova*, T. Kiryakova, D. Nikolov, A. Nedzhib, I. Pantcheva, V. Atanasov, Self-administrated propofol – a case report of a physician suicide, *Toxicol. Anal. Clin.* **30(2)** (2018) 142-148

doi:10.1016/j.toxac.2018.03.002 – Q4

Abstract: Fatal self-administrated propofol intoxication of a 29-years old anesthesiologist, found dead in his home, is reported. The toxicological screening performed using gas chromatography-mass spectrometry of blood and urine samples, evidenced only the presence of propofol and lidocaine despite the numerous empty packages of various drugs found at the crime scene. Propofol was quantitated in all available biological specimens (blood, urine, vitreous humor, liver and brain tissue) using high performance liquid chromatography – diode array/fluorescent detector. The obtained results for drug concentration were as follows: blood – 0.90 µg/mL (free) and 1.00 µg/mL (after enzymatic hydrolysis); urine < 0.05 µg/mL; vitreous humor

– 0.08 µg/mL; liver – 5.70 mg/kg and brain – 1.13 mg/kg. Both toxicological results and autopsy findings confirmed that death was caused by respiratory failure due to propofol overdose, administered within short time period. Crucial factor for data interpretation was the *postmortem* redistribution of propofol, characterized with rapid drug accumulation in tissues.

Резюме: Получен е сигнал за фатална интоксикация с пропофол на 29-годишен анестезиолог, открит мъртъв в дома му. Токсикологичният скрининг, извършен с помощта на газова хроматография-мас спектрометрия на проби от кръв и урина, доказва само наличието на пропофол и лидокаин, въпреки многобройните празни опаковки от различни лекарства, открити на местопрестъплението. Пропофолът е определен количествено във всички налични биологични проби (кръв, урина, вътреочна течност, чернодробна и мозъчна тъкан), използвайки високоефективна течна хроматография с диодна решетка и флуоресцентен детектор. Получените резултати за концентрация на лекарството са следните: кръв - 0,90 µg/mL (свободно състояние) и 1,00 µg/mL (след ензимна хидролиза); урина < 0,05 µg/mL; вътреочна течност - 0,08 µg/mL; черен дроб - 5,70 mg/kg и мозък - 1,13 mg/kg. Както токсикологичните резултати, така и резултатите от аутопсията, потвърждават, че смъртта е причинена от респираторна недостатъчност поради предозиране на пропофол, приложен в кратък период от време. Решаващ фактор за интерпретация на данни бе преразпределението на пропофол след смъртта, характеризиращо се с бързо натрупване на лекарството в тъканите.

15. I. D. Ivanov*, S. S. Stoykova, N. T. Burdzhiev, I. N. Pantcheva, V. N. Atanasov, Analytically confirmed synthetic cannabinoid 5F-ADB sprayed on „herbal mixture“, *Bulg. Chem. Comm. (Special Issue)* **51(D)** (2019) 32-35

Abstract: Synthetic cannabinoids (SCs) are new psychoactive substances, called “legal” alternative to cannabis. Their structures differ from that of Δ⁹-tetrahydrocannabinol (THC), but mimic its biological effect. On the “black” market, SCs appear sprayed on “herbal mixtures” intended for smoking. It is well known that SCs are more potent cannabinoid receptors (CB₁ / CB₂) agonists in human body than THC and possess wide and severe toxicity pattern. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and toxicity profile of most of SCs are not well studied although it is already known that they may pose a risk to human health. In the present study we report five cases of seized “herbal mixtures” containing synthetic cannabinoid 5F-ADB (5F-MDMB-PINACA) which was identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and confirmed by nuclear magnetic resonance (NMR).

Резюме: Синтетичните канабиноиди (СК) са нови психоактивни вещества, наречени “легална” алтернатива на канабиса. Техните структури се различават от тези на Δ⁹-тетрахидроканабинол (ТНС), но имитират биологичния му ефект. На “черния” пазар СК се появяват напръскани върху “билкови смеси”, предназначени за пушене. Добре известно е, че СК са по-мощни агонисти на канабиноидните рецептори (CB₁ / CB₂) в човешкото тяло от ТНС и притежават разностранна и тежка токсичност. Фармакодинамиката и профилът на токсичност на повечето СК не са добре проучени, въпреки че вече е известно, че те могат да представляват риск за човешкото здраве. В настоящото изследване съобщаваме за пет случая на иззети „билкови смеси“, съдържащи синтетичния канабиноид 5F-ADB (5F - MDMB-PINACA), който бе идентифициран чрез газова хроматография-мас спектрометрия (GC-MS) и потвърден с ядрено-магнитен резонанс (NMR).

16. I. D. Ivanov*, S. Stoykova, E. Ivanova, A. Vlahova, N. Burdzhuev, I. Pantcheva, V. N. Atanasov, A case of 5F-ADB / FUB-AMB abuse: drug-induced or drug-related death? *Forensic Sci. Intern.* **297** (2019) 372-377

doi: 10.1016/j.forsciint.2019.02.005 – Q1

Abstract: Synthetic cannabinoids (SCs) belong to the group of new psychoactive substances (NPS) which appear sprayed on herbal mixtures on the “street” drug market and are intended for smoking like marijuana. In the present report we discuss a fatal case of 18-years-old boy, who had smoked SCs since several months and an overuse of SCs during last 48 hours of his life has been appraised. The autopsy findings revealed acute respiratory distress syndrome (ARDS). Both toxicological analysis of deceased blood and urine samples and chemical analysis of the herbal mixture seized revealed presence of two SCs - 5F-ADB and FUB-AMB. The amount of 5F-ADB in blood was found to be 3.7 ng/mL by standard addition method. Severe and irreversible morphology changes in lung specimen, leading to ischemic damage of all internal organs and tissues, were observed during histological examination. The present case can be discussed as an example of both drug-induced and drug-related death resulting from acute intoxication with 5F-ADB and FUB-AMB as well as from systematic use of both synthetic cannabinoids.

Резюме: Синтетичните канабиноиди (СК) принадлежат към групата на новите психоактивни вещества (НПА), които се появяват напръскани върху билкови смеси на „уличния“ пазар на наркотици и са предназначени за пушене като марихуана. В настоящата публикация дискутираме фатален случай на 18-годишно момче, което е пушило СК от няколко месеца, като е поел свръхдоза през последните 48 часа от живота си. Резултатите от аутопсията разкриват синдром на остър респираторен дистрес. Както токсикологичният анализ на проби от кръв и урина от починалия, така и химическият анализ на иззетата билкова смес, показва наличие на два СК - 5F-ADB и FUB-AMB. Установено е, че количеството на 5F-ADB в кръвта е 3,7 ng/mL чрез метода на стандартната добавка. При хистологичното изследване се наблюдават тежки и необратими промени в морфологията на белия дроб, водещи до исхемично увреждане на всички вътрешни органи и тъкани. Настоящият случай може да бъде дискутиран като пример за индуцирана от наркотици и свързана с наркотици смърт в резултат на остра интоксикация с 5F-ADB и FUB-AMB, както и от систематична употреба на двата синтетични канабиноида.

17. I. Pantcheva*, R. Dimitrova, A. Nedzhib, V. Ivanova, P. Dorkov, R. Alexandrova, Spectral properties and biological activity of La(III) and Nd(III) Monensinates, *Open Chem.* **17** (2019) 1423-1434

doi.org/10.1515/chem-2019-0134 – Q3

Abstract: The present research is focused on evaluation of complexation ability of Monensic acid (MonH) towards La^{3+} and Nd^{3+} ions. Changes in the SRCD spectrum of Monensinate anion were monitored upon addition of lanthanide(III) ions. The antibiotic undergoes formation of one neutral ($[\text{Ln}(\text{Mon})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$) and two positively charged complex species of composition $[\text{Ln}(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^+$ and $[\text{Ln}(\text{Mon})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$, respectively ($\text{Ln} = \text{La}^{3+}, \text{Nd}^{3+}$). Neutral complexes were isolated as fine powders and were characterized by IR, FAB-MS and ESI-MS. It is assumed that Monensin acts in bidentate coordination mode *via* monodentate carboxylate moiety and hydroxyl group, both located at the opposite ends of antibiotic molecule. Activity of Monensic acid and $[\text{Ln}(\text{Mon})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ to decrease visible bacteria growth of *B. subtilis*, *S. Lutea* and *B. mycoides* was evaluated by agar hole diffusion method. Results showed that complexation of lanthanide(III) ions to Monensin enhances the activity of non-coordinated ligand. Antitumor efficacy of compounds was assayed on human triple negative breast cancer and transplantable sarcoma in rat. The cytotoxicity was accessed by MTT test, NR uptake, CV assay and double AO/PI staining. Experimental data revealed that Monensic acid and $[\text{Ln}(\text{Mon})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ possess concentration- and time-dependent activity, and express promising cytotoxic properties against human and rat permanent cancer cell lines.

Резюме: В настоящото изследване е оценена способността на Монензин киселина (MonH) да комплексобразува с йони на La^{3+} и Nd^{3+} . Промените в SRCD спектъра на Монензинатния анион са проследени при добавяне на нарастващи количества

лантанидни(III) йони. Антибиотикът образува една неутрална ($[\text{Ln}(\text{Mon})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$) и две положително заредени комплексни частици със състав $[\text{Ln}(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^+$ и $[\text{Ln}(\text{Mon})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ ($\text{Ln} = \text{La}^{3+}, \text{Nd}^{3+}$). Неутралните комплекси са изолирани в твърда фаза като фин прах и са охарактеризирани с IR, FAB-MS и ESI-MS. Предполага се, че лигандът действа бидентатно чрез монодентен карбоксилатен анион и хидроксилна група, разположени в противоположните краища на молекулата на антибиотика. Активността на Монензин киселина и $[\text{Ln}(\text{Mon})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ да потискат видимо растежа на на бактериите *B. subtilis*, *S. Lutea* и *B. mycooides* е оценена по метода „дифузия в агар“. Резултатите показват, че координирането на лантанидни(III) йони към Монензин увеличава ефекта на изходния лиганд. Противотуморната способност на съединенията е анализирана срещу клетки, изолирани от рак на гърдата и трансплантируем сарком при плъх. Цитотоксичността е определена чрез МТТ-, NR-, CV- тестове и оцветяване с АО / PI. Експерименталните данни показват, че Монензин киселина и $[\text{Ln}(\text{Mon})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ притежават обещаващи цитотоксични свойства срещу постоянни клетъчни линии от рак при хора и плъхове, като потискат (дозо- и времево-зависимо) растежа и пролиферацията на туморните клетки.

18. I. Pantcheva*, A. Nedzhib, L. Antonov, B. Gyurcsik*, P. Dorkov, New insights into coordination chemistry of Monensin towards divalent metal ions, *Inorg. Chim. Acta* **505** (2020) 119481

doi.org/10.1016/j.ica.2020.119481 - Q2

Abstract: Complexation reactions of polyether ionophorous antibiotic Monensin A with divalent metal ions were studied in methanolic solutions by means of synchrotron radiation circular dichroism (SRCD) spectroscopy. Data showed that in the presence of organic base (Et_4NOH) Monensin A forms two types of metal complexes depending on metal-to-ligand molar ratio. Complexes of composition $[\text{M}(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ($\text{Mon}^- = \text{Monensinate A anion}$; $\text{M} = \text{Co}^{2+}, \text{Mn}^{2+}, \text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Cd}^{2+}$) exist mainly in the presence of ligand excess ($\text{M}^{2+}:\text{Mon}^- \sim 1:10 - 1:2$), while the increase of metal(II) ion concentration results in the formation of new $[\text{M}(\text{Mon})(\text{H}_2\text{O})]^+$ species ($\text{M}^{2+}:\text{Mon}^- \sim 1:1 - 6:1$), not detected up to now with these metal ions. Experimental data showed that coordination of divalent metal ions to Monensinate A anion significantly influences the SRCD spectral pattern in different manner. Based on sets of SRCD experiments, species distribution, individual spectra of $[\text{M}(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ and $[\text{M}(\text{Mon})(\text{H}_2\text{O})]^+$ as well as their conditional stability constants were calculated. The relative affinity of Monensin A to bind divalent metal ions demonstrates the metal ion selectivity of the ligand.

Резюме: Реакциите на комплексообразуване на полиетерния йонофорен антибиотик Monensin A с двузрядни метални йони са изследвани в метанолови разтвори с помощта на кръгов дихроизъм със синхротронно лъчение (SRCD). Данните показват, че в присъствието на органична база (Et_4NOH) Монензин А образува два вида метални комплекси в зависимост от молното съотношение метал-лиганд. Комплексите със състав $[\text{M}(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ($\text{Mon}^- = \text{Монензинатен анион}$; $\text{M} = \text{Co}^{2+}, \text{Mn}^{2+}, \text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Cd}^{2+}$) съществуват основно в присъствието на излишък от лиганда ($\text{M}^{2+}:\text{Mon}^- \sim 1:10 - 1:2$), докато нарастването на концентрацията на метални(II) йони води до образуването на нови $[\text{M}(\text{Mon})(\text{H}_2\text{O})]^+$ комплексни частици ($\text{M}^{2+}:\text{Mon}^- \sim 1:1 - 6:1$), наблюдавани за първи път с тези метални йони. Експерименталните данни показват, че координирането на двузрядни метални йони към Монензинатния А анион значително повлиява SRCD спектъра на Монензин, и то по различен начин. Въз основа на серия от експерименти с кръгов дихроизъм бе изчислено разпределението на частиците, индивидуалните спектри на $[\text{M}(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ и $[\text{M}(\text{Mon})(\text{H}_2\text{O})]^+$, както и техните условни стабилитетни константи. Относителният афинитет на Монензин А да свързва двузрядни метални йони демонстрира селективността на лиганда към металните йони.

19. T. Dudev*, D. Cheshmedzhieva, R. Dimitrova, P. Dorkov, I. Pantcheva*, Factors governing the competition between group IA and IB cations for Monensin A: a DFT/PCM study, *RSC Advances* **10** (2020) 5734-5741

doi.org/10.1039/C9RA09784H – Q1

Abstract: The affinity of monensin A to bind monovalent metal cations was evaluated by means of density functional theory (DFT) combined with polarizable continuum model (PCM) computations. The effect of various factors which may render on complex formation between monensinate A anion and Group IA and IB metal ions was accessed. Competition between Na⁺ taken as a reference and monovalent metal cations was estimated using the free Gibbs energy for substituting the ligand-bound Na⁺ with its rival ions in the process [M⁺-solution] + [Mon⁻Na⁺] → [Mon⁻M⁺] + [Na⁺-solution] (M⁺ = Li, K, Rb, Cs, Cu, Ag and Au). The calculations revealed that the decrease in size of cations accompanied by an increase of their accepting ability enhances the metal selectivity towards ligand donor atoms. In the gas-phase the affinity of monensinate A decreases in the order Cu⁺ > Li⁺ > Na⁺ > Au⁺ > Ag⁺ > K⁺ > Rb⁺ > Cs⁺. The complex formation can be manipulated by changing the solvent used. The polyether ionophore selectively binds Na⁺ ions in polar solvents but could become Li⁺ or Cu⁺-selective in low-polarity solvents.

Резюме: Афинитетът на Монензин А да свързва еднозарядни метални катиони е оценен с помощта на функционала на теорията на плътността (DFT), комбинирана с изчисленията на поляризуемия континуум (PCM). Анализирани са ефектите на различни фактори, които могат да доведат до образуването на комплекси между Монезинатния А анион и метални йони от групи IA и IB. Конкуренцията между Na⁺, възприет като референтен йон, и еднозарядните метални катиони, е оценена чрез свободната енергия на Гибс за заместване на свързания с лиганда Na⁺ йон с неговите конкурентни йони в процеса [M⁺ -разтвор] + [Mon⁻Na⁺] → [Mon⁻M⁺] + [Na⁺ -разтвор] (M⁺ = Li, K, Rb, Cs, Cu, Ag и Au). Изчисленията показват, че намаляването на размера на катионите, придружено с увеличаване на „приемащата“ им способност, повишава селективността на металните йони към донорните атоми от лиганда. В газова фаза афинитетът на Монезинатния А анион намалява в реда Cu⁺ > Li⁺ > Na⁺ > Au⁺ > Ag⁺ > K⁺ > Rb⁺ > Cs⁺. Образуването на съответния комплекс може да се „направява“ чрез вариране на използвания разтворител. Полиетерният йонофор се свързва селективно с йони на Na⁺ в полярни разтворители, но лигандът може да стане селективен по отношение на йоните на Li⁺ или Cu⁺ в разтворители с по-ниска полярност.

II. Публикации в пълен текст в сборници от научни конференции

20. T. Zhivkova, D. Salkova, I. Pantcheva-Kadрева, M. Mitewa, R. Alexandrova*, What do we (not) know about monensin ? In: *Proceedings of 6th Edition of the Symposium with International Participation "New trends and strategies in the chemistry of advanced materials"*, S. G. Muntean, R. Tudose (Eds.), Timisoara (2012), pp. 11-15, ISSN: 2065-0760.

Глава от колективна монография

Abstract: Monensin, a polyether Na⁺ ionophore isolated from *Streptomyces cinnamonensis*, is known to disturb metal homeostasis of microorganisms and parasites. It has been used for more than forty years to control coccidiosis in poultry, as well as in game birds, sheep, and cattle. There are data that more animals have been medicated with ionophores, such as monensin, or control of disease than any other medicinal agents in the history of veterinary medicine. Recent experimental data have shown that monensin possesses antitumor activity against cell lines established from various malignancies. Something more, the investigations performed in our laboratories indicate that complexes of monensic acid with some biometal(II) ions (Mg, Ca, Co, Mn, Ni, Zn) express significant antineoplastic potential against cell lines obtained

from some of the most common and aggressive human cancers (glioblastoma multiforme, cancers of the breast, liver, lung, uterine cervix) being more active as compared to the non-coordinated monensic acid.

Резюме: Известно е, че Монензин - полиетерен натриев йонофор, изолиран от *Streptomyces cinnamonensis*, нарушава металната хомеостаза на микроорганизмите и паразитите. Той се използва повече от четиридесет години за борба с кокцидиозата при домашните птици, както и при дивечовите птици, овцете и говеда. Има данни, че повече животни са били лекувани с йонофори като Монензин, отколкото с всички други лекарствени средства в историята на ветеринарната медицина. Последните експериментални данни показват, че Монензин притежава антипролиферативна активност срещу редица туморни клетъчни линии. Нещо повече, нашите изследвания показват, че комплексите на Монензин киселина с някои йони(II) на биометалите (Mg, Ca, Co, Mn, Ni, Zn) притежават значителен антинеопластичен потенциал срещу клетъчни линии, изолирани от някои от най-често срещаните и агресивни туморни заболявания у човек (мултиформена глиобластома, рак на гърдата, на черния дроб, на белите дробове, на маточната шийка), и са по-активни в сравнение с некоординираната Монензин киселина.

21. I. N. Pantcheva*, V. Atanasov, Tz. Dimitrova, R. Zhorova, L. Tancheva. Biological properties of copper(II) complexes of the macrolide antibiotic Tylosin, In: *Recent Developments in Coordination, Bioinorganic and Applied Inorganic Chemistry*, M. Melnik, P. Segl'a, M. Tatarko (Eds.) Press of Slovak University of Technology, vol. 11 (2013) pp. 356-362. ISBN: 978-80-227-3918-4

Глава от колективна монография

Abstract: Macrolide antibiotic Tylosin (HL) binds copper(II) ions to form two type of complexes depending on reaction conditions. Mononuclear violet complex **1** [CuL₂] consists of metal(II) ion placed in a square-planar environment where Tylosin monoanions act in a bidentate coordination manner *via* amino- and deprotonated OH-groups. At comparable metal-to-ligand molar ratio Tylosin forms binuclear complexes of composition [Cu₂L₂X₂] (X = Cl⁻ (**2**) or NO₃⁻ (**3**)). The copper(II) centers are four-coordinated by two oxygens from two ligand anions, one Tylosin nitrogen atom and one inorganic anion. Tylosin serves as a bridge between both metal ions through its oxygen atom from deprotonated hydroxyl moiety and acts in a bidentate mode. The biological assays revealed that Tylosin and its complexes are relatively non-toxic compounds (white male ICR mice). The *in vitro* determined antibacterial and SOD-like activities showed that copper(II) complexes **1-3** are generally more promising agents than the non-coordinated Tylosin base.

Резюме: Макролидният антибиотик Тилозин (HL) реагира с медни(II) йони до образуването на два типа комплекси в зависимост от реакционните условия. Моноядреният виолетов комплекс **1** [CuL₂] се състои от метален(II) йон, намиращ се в плоско-квадратно обкръжение, като тилозиновите моноаниони действат бидентатно чрез амино- и депротонирани ОН-групи. При сравними молни съотношения метал-лиганд Тилозинът образува диядрени комплекси със състав [Cu₂L₂X₂] (X = Cl⁻ (**2**) или NO₃⁻ (**3**)). Медните(II) центрове са четирикоординирани с два кислорода от два анионни лиганди, един азотен атом от Тилозин и един неорганичен анион. Тилозинът служи като мост между двата метални центъра през кислородния си атом от депротонирана хидроксилна група. Биологичните тестове показаха, че Тилозин и неговите комплекси са сравнително нетоксични съединения при бели мъжки ICR мишки. Оценените *in vitro* антибактериална и SOD-имитираща способност показват, че медните(II) комплекси **1-3** като цяло са перспективни агенти от некоординирания Тилозин база.

22. I. Pantcheva*, R. Dimitrova, A. Nedzhib, P. Dorkov, R. Stoyanova, E. Zhecheva, Coordination compounds of polyether ionophore Monensin with gadolinium(III) ions, *In: Nanoscience & Nanotechnology: Nanostructured materials application and innovation transfer*, Balabanova, E., Mileva, E. (Eds.), NCCNT-BAS, Sofia, vol. 19(1), 2019, pp. 40-46, ISSN 1313-8995

Глава от колективна монография

Abstract: The study of properties of polyether ionophorous antibiotics (PI) and their metal complexes has become an important part of research in the biological chemistry field due to the diverse activity of ligands against parasites, Gram-positive microorganisms, fungi, tumor cells, etc. Knowledge on coordination chemistry of PI, in particular - Monensin and its complexes with mono- and divalent metal ions, was further extended to the evaluation of ligand ability to bind trivalent metal ions of gadolinium(III). It was found that depending on metal-to-ligand molar ratio, Monensin forms different kind of mononuclear complexes – at least one neutral and two positively charged. Coordination of the ligand was studied in solution by means of synchrotron radiation circular dichroism (SRCD). Composition and coordination mode of Monensin in neutral complex species was evaluated using various (IR, ESI-MS, EPR) spectral techniques.

Резюме: Изследването на свойствата на полиетерните йонофорни антибиотици (PI) и техните метални комплекси се превърна във важна част от експериментите в областта на биологичната химия поради разнообразната активност на лиганда срещу паразити, Грам-положителни микроорганизми, гъби, туморни клетки и др. Познанията за координационната химия на PI, в частност - Монензин и неговите комплекси с едно- и двузрядни метални йони, бяха допълнително разширени с оценка на способността на лиганда да свързва тризрядните метални йони на гадолиний(III). Установено е, че в зависимост от молното съотношение метал-лиганд, Монензин образува различни видове моноядрени комплекси - поне един неутрален и два положително заредени. Координирането на лиганда е изследвано в разтвор с помощта на кръгов дихроизъм със синхротронно лъчение (SRCD). Съставът и начинът на свързване на Монензин в неутралните комплексни частици са оценени с помощта на различни спектрални методи (IR, ESI-MS, EPR).