

Резюме на научните трудове

на доц. д-р Иванка Станкова – кандидат за заемане на академична длъжност „професор“ в Област 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление 4.2. “Химически науки“ (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества – химия на лекарствените средства), обявен в Държавен Вестник бр. 97/13.11.2020 г.

Основните ми научни приноси и изследвания са в областта на медицинската химия като всички те са свързани със синтез на нови биомолекули с различна биологична активност, тяхното охарактеризиране, определяне на хидролитичната им стабилност в моделни разтвори имитиращи условията в човешкия организъм и извеждане на някои ключови зависимости структура-биологична активност. Разработките по-конкретно са свързани с химични модификации на лекарствени средства и по-специално такива с противовирусна активност, използвани срещу HIV-1, противохерпесни и противогрипни лекарствени средства. Другата част от научните приноси са насочени към създаване на хибридни молекули, съдържащи два фармакофора с едновременно противовирусно действие и потискащи развитието на Болестта на Паркинсон, както и такива потискащи развитието на Болестта на Алцхаймер и антибактериална активност. И двата вида хибридни молекули понастоящем са подадени като заявления за патент.

В контекста на гореизложеното научните ми приноси могат да бъдат обобщени в следните направления:

- 1. Синтез и охарактеризиране на модифицирани лекарствени молекули, биологични изследвания и извеждане на някои зависимости структура-активност.*
- 2. Изследване на стабилността на новосинтезирани, модифицирани лекарствени молекули.*
- 3. Структурни анализи на модифицирани лекарствени молекули чрез използване на спектрални методи.*

- 1. Синтез, биологични изследвания и извеждане на някои зависимости структура-активност върху:*

Лекарствени средства с анти – HIV-1 активност

Синдромът на придобитата имунна недостатъчност (СПИН) е заболяване на човешката имунна система, причинено от вируса на човешката имунна недостатъчност (ХИВ). Болестта прогресивно намалява ефективността на имунната система, правейки болния уязвим за опортюнистични инфекции и тумори. В наши дни СПИН има пандемичен характер като през 2007 година броят на болните по света се оценява на 33,2 милиона души, а на жертвите на болестта – на 2,1 милиона души годишно.

Антиретровирусната терапия намалява както смъртността, така и заболеваемостта при инфекция с ХИВ – при консистентно приемане на предписаните като част от терапията лекарства, пациентът може да очаква дълъг и пълноценен живот като при останалите хора; средната продължителност на живота при лечение с антиретровирусна терапия може да достигне тази на здрав човек.

Ivanka G. Stankova, K. Stanoeva, A. Hinkov, I. Alexiev, P. Genova-Kalou, R. L. Chayrov, R. Argirova. *Amino acid and peptide esters of abacavir: synthesis and activity against human immunodeficiency virus type 1 in cell culture*, Medicinal Chemistry Research, 21, 12, 4053–4059, **2012**. – Q1

Един от съвременните препарати прилагани в лечението на HIV позитивни пациенти е абакавир. Препаратът показва странични ефекти при около 4% от пациентите - реакции на свръхчувствителност, риск от сърдечно-съдови заболявания и др. Възможен начин, широко прилаган в медицинската практика, за минимизиране на страничните ефекти е чрез модифициране на химичната структура.

- Бяха синтезирани три естера на абакавир, съдържащи аминокиселината глицин и пептидите глицилглицин, глицилглицилглицин и беше изследвана тяхната активност върху репликацията на HIV-1 III В в моделни МТ-4 клетки.
- Един от новосинтезираните естери - Gly-абакавир показва ниска цитотоксичност и висока анти-HIV-1 активност в използваните моделни клетки, както и ниска митохондриална токсичност и висока генетична бариера на резистентност.

Лекарствени средства с противохерпесна активност

Световната заболеваемост от HSV-1 и/или HSV-2 при възрастни хора варира между 60% и 95%. Лекарствените средства прилагани срещу HSV-1 и/или HSV-2 са ацикловир,

който се характеризира с ниска бионаличност и по-новото поколение препарати ганцикловир и пенцикловир.

R. Chayrov, E. Stylos, M. Chatziathanasiadou, K. Chuchkov, A. Tencheva, A. Kostagianni, T. Milkova, A. Angelova, A. Galabov, S. Shishkov, D. Todorov, A. Tzakos, **I. Stankova**. *Tailoring acyclovir prodrugs with enhanced antiviral activity: rational design, synthesis, human plasma stability and in vitro evaluation*, **Amino acids**, vol. 50,1131, **2018 – Q 1**

Жлъчните киселини холева, дезоксихолева и хенодезоксихолева се прилагат като транспортни системи за пренос през клетъчната мембрана с цел подобряване фармакокинетичния профил на различни биологично активни молекули (ацикловир, пенцикловир, ганцикловир).

- Бяха синтезирани три естера на антихерпесното лекарствено средство ацикловир (ACV) с холева, хенодеоксихолева и дезоксихолева киселини;
- Съединенията са изследвани *in vitro* срещу херпес симплекс тип 1 и тип 2 (HSV-1, HSV-2);
- Антивирусната активност на трите естера на жлъчните киселини е изследвана *in vitro* срещу вируса на Epstein-Barr (EBV).
- Изследвана е плазмената стабилност, чрез течна хроматография, комбинирана маспектрометрична детекция;
- Изследвана е *in vitro* цитотоксичността, за да се установи биологичния профил на естерите на ACV.
- Наблюдаваната противовирусната активност показва, че ACV-холатът има подобрена антивирусна активност от ACV срещу HSV-1, и осем пъти по-висока активност по отношение на ACV срещу HSV-2;
- ACV-хенодеоксихолатът е с шест пъти по-висока антивирусна активност срещу HSV-2 спрямо ACV;
- Най-висока активност срещу вируса на Epstein-Barr проявява ACV-хенодеоксихолат;
- В човешка кръвна плазма най-висока стабилност проявява ACV-дезоксихолатът;
- Резултатите от изследването показват, че модифицирането на ацикловир с жлъчни киселини е успешна модификация за създаване на предлекарства с повишена противовирусна активност.

Модификации, сходни с тези на молекулата на ацикловира с жлъчни киселини, при други противохерпесни лекарствени средства ганцикловир и пенцикловир не показваха подобряване на техните фармакокинетични свойства.

- Бяха синтезирани и изследвани *in vitro* срещу херпес симплекс тип 1 и тип 2 (HSV-1, HSV -2) естери на ганцикловир, пенцикловир с жлъчните киселини холева, хенодезоксихолева и дезоксихолева;
- Резултатите показваха, че модифицираните аналози на ганцикловир и пенцикловир са по-малко активни срещу HSV-1 и HSV-2 в сравнение с основните съединения;
- CC_{50} за ганцикловир-дезоксихолат съответства на CC_{50} на останалите аналози и неговата активност е по-ниска от тази на ганцикловир;
- Получените резултати показват, че тези модификация не подобряват бионаличността на нуклеозидни аналози в клетките.

Лекарствени средства с противогрипна активност

Грипът представлява сериозна вирусна инфекция на респираторния тракт. По данни на СЗО, грипният вирус е отговорен за заболяването на 3 до 5 милиона души и за смъртта на 250 000 до 500 000 души годишно, причинени както директно от вируса, така и от вторични инфекции. През последното столетие три големи пандемии, H1N1 вирус през 1918-19 (“Испански грип”), H2N2 вирус през 1957 и H3N2 вируса през 1968 кумулативно са причина за загуба на приблизително 50 млн души.

Последната пандемия- през 2009 известна още като “Мексикански грип” (грипен вирус тип А, H1N1, “свински грип”), се оказа относително безобидна, докато високо патогенния „птичи грипен вирус” (H5N1) през последните години е причина за сериозно безпокойство, т.к. лесно преминава от животните върху хора.

Понастоящем се прилага два основни (доказани) терапевтични подхода за лечение на грипа или за превенция на инфекциите: 1) ваксини и 2) използване на противовирусни средства. Усилената работа в последните 40 години в изследването на вещества с инхибиторен ефект върху различни мишени на грипните вируси е довело до утвърждаването в клинична практика основно на две групи съединения: M2 блокери и невраминидазни инхибитори.

Ivanka G. Stankova, Kiril Chuchkov, Rumen Georgiev, Angel S. Galabov. *Amantadine and rimantadine analogues with peptidomimetics*. Proceedings of the 32nd European Peptide Symposium, 488-489, **2012**.

Ivanka Stankova, Kiril N. Chuchkov, Rumen K. Georgiev, Galya Ivanova, Angel S. Galabov. *New Adamantane Analogues - Synthesis and Antiviral Activity*. Five International Scientific Conference FMNS-**2013**, Blagoevgrad, vol 4, pp, 3-9, **2013**.

Kiril Chuchkov, Valeria Ivanova, Angel Galabov and **Ivanka Stankova**, *Design of Amino Acid Esters of Amantadine*, Proceeding of the 33rd EPS, 104-105, **2014**.

Kiril Chuchkov, Ventzislav Zahariev, Angleg Galabov, **Ivanka Stankova**, *Chemical Modifications of Inhibitors of M2 Ion Channel of Influenza Virus*, Proceeding of the 33rd EPS, ISBN 978-619-90427-2-4, 106-107, **2014**.

Radoslav Chayrov, Spaska Rizova, Vasilka Markova, Angel Galabov, **Ivanka Stankova**, *Synthesis and antiviral activity of the arginine derivatives of influenza virus drugs*, Proceeding of the 33rd EPS, ISBN 978-619-90427-2-4, 102-103, **2014**.

R. Chayrov, V. Veselinova, V. Markova, L. Mukova, A. Galabov, I. **Stankova**, *Synthesis and Antiviral Activity of Some Amino Acids Derivatives of Influenza Virus Drugs*, Chemistry, **Bulgarian Journal of Science Education**, 24, 3, 348-354, **2015 – Q3**

R. Chayrov, L. Mukova, A. Galabov, Y. Mitrev **I. Stankova**, *Amantadine analogues – synthesis and biological activity*, **Bulgarian Chemical Communications**, 49, 61-63, **2017 – Q 4**

R. Chayrov, N. Parisis, M. Chatziathanasiadou, E. Vrontaki, K. Moschovou, G. Melagraki, H. Sbirikova-Dimitrova, B. Shivachev, M. Schmidtke, Y. Mitrev, M. Sticha, T. Mavromoustakos, A. G. Tzakos, **I. Stankova**, *Synthetic Analogues of Amino adamantane as Influenza Viral Inhibitors-In Vitro, In Silico and QSAR Studies*, **Molecules**, 25, 17, 3989, **2020**, doi:10.3390/molecules25173989 – **Q1**

Амантадин и римантадин са противовирусни лекарствени средства от групата на M2 блокери, прилагани при лечение на грипен вирус. Амантадинът в същото време се прилага и при лечение на Болестта на Паркинсон.

- Бяха синтезирани деветнадесет аминокиселинни аналози на амантадин (Amt) и римантадин (Rim) и беше изследвана тяхната противовирусна активност *in vitro* срещу грипен вирус А щам H3N2.

- Най-висока противовирусна активност, съчетана с ниска цитотоксичност, показва аминокиселинното производно на римантадин с глицин.
- Същото производното показва изключително висока стабилност *in vitro* в човешка кръвна плазма за 24 часа.
- Термичната му стабилност е установена с помощта на диференциален и гравиметричен термичен анализ.
- Кристалната структура на глицил-римантадин разкри, че той кристализира в орторомбичната космическа група Pbc_a.
- Установена е връзката структура-активност за този клас съединения с CoMFA (сравнителен анализ на молекулярното поле) 3D-Quantitative Structure Activity Relations Relations (3D-QSAR) изследвания, използвани за прогнозиране на биологичната активност на синтетични молекули.
- Бяха проведени молекулярни докинг проучвания, разкриващи структурни изисквания за създаване на активни молекули.

I. Stankova, K. Chuchkov, R. Chayrov, L. Mukova, A. Galabov, D. Marinkova, D. Danaley, Adamantane derivatives containing thiazole moiety: synthesis, antiviral and antibacterial activity *Int. Journal Peptide Research Ther.*, DOI 10.1007/s10989-019-09983-4, **2019 - Q3**

- Синтезирани са аналози на адамантановите производни амантадин и римантадин, съдържащи тиазолов мотив и е изследвана тяхната противовирусна активност спрямо грипен щам H1N1 и антибактериална активност спрямо моделни щамове грам положителни (*Bacillus cereus*), грам отрицателни (*Escherichia coli*) микроорганизми и гъбичен щам *Yarrowia lipolytica* 3344.

I. Stankova, R. Chayrov, E. Tzvetanova, A. Georgieva, A. Alexandrova. Comparative study of the antioxidant capacity of some amantadine derivatives, *Current Topics in Peptide & Protein Research*, 20, 67-72, **2019, – Q4**

- Бяха синтезирани три новосинтезирани производни на амантадин с ароматни аминокиселини и изследвани за тяхната антиоксидантна активност чрез използване на химични системи, които генерират супероксидни анионни радикали и хидроксилни радикали, както и чрез прилагане на DPPH тест.

Изследването е свързано с модификации на съвременния препарат от групата на инхибиторите на невраминидазата – оселтамивир

- Изследвани са производни на оселтамивир с жлъчните киселини холева, дезоксихолева и хенодеоксихолева киселини;
- Направени са структурни модификации в химичната структура на неврамидазния инхибитор оселтамивир с цел повишаване на бионаличността му;
- Аналозите са изследвани за противовирусна активност срещу вирус А / Aichi / 2/68 (H3N2).
- Проведените задълбочени изследвания показаха, че новосинтезираните съединения не показват ефект срещу грипния вирус А (H3N2).

Лекарствени средства прилагани срещу Болестта на Алцхаймер

Много невродегенеративни заболявания са резултат от прогресивна загуба на структура или функция на невроните, включително умъртвяване на неврони. Това са трудно лечими заболявания, които водят до прогресираща дегенерация и/или загуба на нервни клетки. Понастоящем се счита, че прогресивното влошаване на когнитивните възможности, обозначено като болест на Алцхаймер, е нелечимо, дегенеративно и терминално заболяване. Лечението обикновено е симптоматично - използват се антидепресанти, анксиолитици, невролептици, инхибитори на холинестеразата и други симптоматици. Доколкото, обаче, заболяването е резултат от нарушено изпращане на сигнали в мозъка, важна роля в което играят така наречените N-метил-D-аспартат (NMDA)- рецептори, напоследък се използват средства за свързване на (NMDA) рецепторите върху клетките на мозъка и блокиране активността на невротрансмитера глутамат. Такова средство е мемантинът- адамантаново производно, което е единственото одобрено от Американската Агенция по Храните и Лекарствата (FDA) лекарство за лечение на болестта на Алцхаймер (БА) (Agacava et al., 2005).

От друга страна, проучване на Yu et al., 2015, предназначено да идентифицира неизвестни антимикробни свойства на известни лекарства, показва за първи път, че мемантинът може ефективно да блокира бактериемия и менингит, причинен от *E. coli* при модел на мишки. Резултатите от изследванията установяват, че мемантадинът притежава потенциал за лечение на менингококова инфекция, но той е насочен по-скоро към гостоприемника, отколкото към бактериалния патоген, защото *in vitro* не показва антимикробната активност.

R. Chayrov, Al. Tencheva, H. Sbirikova-Dimitrova, B. Shivachev, A. Kujumdzieva, Tr. Nedeva, **I. Stankova**, *Antibacterial, and Antifungal Activities of Hybrid Molecules Based on Alzheimer Disease Drugs and Bearing an Amino Acid Fragment*, November 2019, Conference: **The 23rd International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry**, DOI: 10.3390/ecsoc-23-06602 -Q1

- Целта на настоящото проучване е да се разработят нови съединения - производни на мемантин с антимикробна активност, предназначени за приложение при лечение на бактериални и гъбични инфекции при пациенти, страдащи от болестта на Алцхаймер.
- За да се постигне тази цел, бяха синтезирани серия от шест мемантинови хибридни молекули, охарактеризирани с ¹H NMR, ¹³C NMR, MS, рентгенов анализ и те бяха тествани за активност при Болестта на Алцхаймер, както и като и антимикробен агент;
- Изследваните мемантинови аналози с аминокиселини проявяват инхибиторен ефект върху отделни микроорганизми;
- Val-мемантинът показва по-голяма активност срещу Грам-отрицателни бактерии и към Грам-положителни (*Bacillus megaterium*);
- β-Ala-мемантинът има висок ефект спрямо *Salmonella enterica*, а Gly-Thiazole има добър инхибиторен ефект срещу Грам-положителни бактерии;
- 4-F-Phe-мемантинът е ефективен при всички изследвани щамове микроорганизми. Инхибиторният ефект е съизмерим с този на тетрациклин и нистатин.
- 4-F-Phe-мемантинът е най-обещаващият като нов антиинфекциозен терапевтичен агент, срещу клинично значими, условно патогенни бактерии при пациенти, страдащи от умерена до тежка деменция от типа на Алцхаймер.

Aleksandra Tencheva, Rui Liu, Tatyana V. Volkova, Radoslav Chayrov, Yavor Mitrev, Martin Štícha, Yuhuan Li, Hailun Jiang, Zhuorong Li, Ivanka Stankova, German L. Perlovich, Synthetic analogues of memantine as neuroprotective and influenza viral inhibitors: in vitro and physicochemical studies, *Amino acids*, 52,1559–1580, 2020 –<https://doi.org/10.1007/s00726-020-02914-4> - Q 1

- Мемантинът е лекарствено средство за лечение на различни патологии, включително болестта на Алцхаймер. В настоящото проучване са синтезирани поредица от производни на мемантин, включващи аминокиселинни остатъци и е изследвана *in vitro* тяхната невропротективна активност по отношение на болестта на Алцхаймер, включваща ефектите върху устойчивостта на А β токсичност, токсичност, оксидативен стрес, хипоксия и невровъзпаление.
- Цитотоксичността на съединенията е изследвана чрез CPE анализ. TC₅₀ и IC₅₀ е определена по метода на Reed и Muench.
- Измерена е разтворимостта и разпределението. Пропускливостта на съединенията беше изследвана с помощта на дифузионна клетка на Franz и бариера Permeapad™. Тези съединения показват добри невропротективни ефекти срещу А-токсичност, предизвикана от метала мед, и индуцирана от глутамат екситотоксичност.
- Те също така показват способността да инхибират възпалителното освобождаване на цитокини от активираната микроглия и потенциални анти-невровъзпалителни ефекти.
- Две най-обещаващи съединения Н-4-F-Phe-мемантин и Н-Туг-мемантин показват активност сравнима с мемантин хидрохлорид.
- Установена е висока разтворимост във фосфатен буфер. Коефициентите на разпределение показват оптималната липофилност.
- Получените резултати показват нов клас мемантинови производни като потенциални лекарствени съединения. Въз основа на експерименталните резултати са получени корелации между биологичните, физикохимичните параметри и структурните дескриптори. Предложени са корелационни уравнения, за да се предскажат свойствата на новите производни на мемантин, като се знае само структурната формула.

IG Stankova, AI Stoilkova, RL Chayrov, ER Tsvetanova, AP Georgieva, AV Alexandrova, *In vitro antioxidant activity of memantine derivatives containing amino acids*, **Pharmaceutical Chemistry Journal**, **54**, 268–272, 2020 – Q4

- Болестта на Алцхаймер (AD) е най-често срещаният тип деменция при възрастни хора. Тъй като оксидативният стрес е важна характеристика на AD, може да се приеме, че модификации на лекарствени средства с вещества с антиоксидантни свойства може да доведе до благоприятен ефект.
- Целта на това проучване беше да се изследва антиоксидантната активност на 7 аналога на мемантин (MEM) с Gly, Ala, β -Ala, Val, Phe, Phe (4-F) и Gly-Gly.
- Антиоксидантният капацитет на MEM аналози е тестван в химични системи, генериращи супероксиден анион ($\bullet O_2^-$) и хидроксилни ($\bullet OH$) радикали, и чрез прилагане на DPPH теста.
- Резултатите показаха незначителен ефект на веществата върху намаляването на DPPH \bullet . Съдържащите Phe производни оказват защитен ефект върху индуцираното от OH при разграждане на дезоксирибозата и имат способности да хелатират желязни йони.
- В заключение, от изследваните съединения Phe-MEM проявява добра антиоксидантна активност и обещаващ ефект при лечение на AD.

2. Изследване на химична стабилност на модифицирани лекарствени молекули

Ivanka Stankova, Kiril Chuchkov, Radoslav Chayov. *Chemical stability of esters of acyclovir with amino acid and cholic acids*. Proceedings of the 32nd European Peptide Symposium, 490-491, 2012.

- Хидролитичната стабилност на естери на ацикловир: 4-F-фенилаланилацикловир (R, S), ацикловирдеоксихолат и ацикловирхенодезоксихолат са изследвани моделни системи, имитиращи човешкия организъм при рН=1 и рН=7.4 и температура 37°C.
- Разработен е HPLC метод за количествено определяне на концентрацията на изследваните вещества.
- Аминокиселинният естер на ацикловир е относително нестабилен при рН=1, но при същото рН естерът на жлъчната киселина е стабилен.
- При рН=7.4 всички тествани съединения са по-стабилни от валацикловир ($t_{1/2} = 13$ h).
- При рН=1, DCh-ACV и CCh-ACV са по-стабилни от валацикловир.
- Ацикловирхенодезоксихолат е най-обещаващият кандидат за предлекарство с висока активност и химична стабилност.

K. Chuchkov, D. Mitreva, V. Markova, **I. Stankova**, *Chemical stability of thiazole analogues of rimantadine and amantadine*, **Bulgarian Chemical Communications**, 49, 58-60, 2017 – Q4

- Понастоящем се прилагат два класа противовирусни средства срещу грипния вирус: инхибиторите на невраминидазата (оселтамивир, перамивир, занамивир) и блокери на М2 протонните канали (амантадин и ремантадин). Тъй като ваксинацията, съществуващата антивирусна терапия и бързата поява на резистентност към блокери на протонните М2 канали не могат да гарантират защита срещу грипния вирус, като все още в световен мащаб се наблюдават смъртни случаи, дължащи се на инфектиране с вируса, борбата с този вирус остава важна задача в здравеопазването, което изисква създаване на нови лекарства.
- В търсенето на нови предлекарства, ефективни срещу грипния вирус, са синтезирани аналози на тиазол с амантадин и римантадин (RS) -1- (1-адамантил) етанамин) и е проучена тяхната противовирусна активност.
- Химичната им стабилност е изследвана при рН 1 и 7,4 и температура от 37°C. Разработен е HPLC метод за количествено определяне на концентрация на изследваните вещества.

- Изследвана е хидролитичната стабилност на нови аналози на мемантин, модифицирани с аминокиселини, при различно рН, съответстващо на човешките биологични течности и органи. Мемантин е неконкурентен антагонист на N-метил-d-аспартатния рецептор с нисък до умерен афинитет. В допълнение, той е първият представител на нов клас лекарства за болестта на Алцхаймер (AD), действащи върху глутаматергичната система чрез блокиране на N-метил-D-аспартатните рецептори.
- Изследваните съединения включват модифициран мемантин със следните аминокиселини: аланин, β -аланин, глицин, фенилаланин и валин.
- Хидролитичната стабилност се определя при две различни стойности на рН 2,0 и 7,4 при 37 ° C, подобни на тези в стомах и кръвната плазма. Специално разработен UV-VIS спектрофотометричен метод за количествено определяне на концентрациите на непроменени съединения е приложен в кинетичните изследвания.
- Val-MEM е най-стабилен в неутрална среда и при 37 ° C с $t_{1/2} = 50,2$ часа.
- Съединението Phe-MEM има също много добра хидролитична стабилност с $t_{1/2} = 29,6$ h.
- Редът на другите съединения е: Val-MEM \gg Phe-MEM \gg Ala-MEM \approx Val-MEM $>$ β -Ala-MEM.
- Ala-MEM и Gly-MEM са най-стабилните съединения при рН 2,0 с почти идентични стойности за $t_{1/2} = 17,8$ h и $t_{1/2} = 16,3$ h, съответно.
- Стабилността на тестваните съединения в киселинни условия е относително по-малка, отколкото в неутрална. Те са подредени, както следва: Ala-MEM \approx Gly-MEM $>$ Val-MEM \approx Phe-MEM \approx β -Ala-MEM.
- Всички съединения имат относително добра хидролитична стабилност повече от 10 часа както при неутрални, така и при кисели условия, което е напълно достатъчно, за да преминават в кръвообращението и да се използват като потенциални антимикуробни средства.

3. Структурни анализи на модифицирани лекарствени молекули чрез използване на спектрални методи:

M Šticha, RL Chayrov, **IG Stankova**. *Understanding the Fragmentation Pathways of Carbocyclic Derivatives of Amino Acids by Using Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry*, **Analytical Letters** 52 (13), 2069-2076, **2019, Q3 – 15 т.**

- Аминоацилни производни на аминокислотите амантадин и римантадин са синтезирани и техните противовирусни свойства са изследвани.
- Не са известни проучвания на подобни съединения чрез използване на мас-спектрометрия с висока разделителна способност.
- Наблюдават се два основни пътя на фрагментация. За производни на римантадин това е римантадин и N- (1-адамантил) етилформамид.
- По същия начин, при производните на амантадин е амантадин и N- (1-адамантил) формамид. Фрагментацията на аминокислотната група е обща за всички изследвани съединения.
- Изследването на механизма на фрагментация може да донесе нова представа за характеризирането на тези съединения.

Y. Mitrev, R. Chayrov, **I. Stankova**, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Adamantane Derivatives: Interpretation of Proton and Carbon Chemical Shifts*, **Spectroscopy Letters**, 53, 7, 489-493, **2020 - Q3**

- Изследвани са с ядрено-магнитен резонанс 12 адамантанови амиди с потенциална биологична активност.
- Присвояването на протонни и въглерод-13 химични отмествания показва сходни тенденции в тяхното спектрално поведение, заедно с някои специфични структурни промени в случаите на ароматни заместители.
- Наблюденията осигуряват добра основа за бъдещи изследвания, било като инструмент за подпомагане на базата данни за определяне на нови съединения или като отправна точка за анализ на конфигурацията и конформацията.

Заявления за патенти

1. Адамантаново производно с противовирусна и антипаркинсонова активност – 2018 г.

Изобретението се отнася до адамантаново производно с противовирусна и антипаркинсонова активност, приложимо за превенция и лечение на заболявания, свързани с нарушение на синтеза и екскрецията на допамин.

2. Инхибитор на вирусната невраминидаза и на M2 протонния канал – 2018 г.

Изобретение се отнася до инхибитор на вирусна невраминидаза и блокер на M2 протонния канал, метод за неговото получаване и приложението му за лечение на вирусни инфекции.

3. NMDA-рецепторен антагонист с антимикробна активност - 2020 г.

Изобретението се отнася до антагонист на N-метил-D-аспартат (NMDA) рецепторите с антимикробна активност, приложимо при пациенти с болестта на Алцхаймер с бактериална и гъбична инфекции, причинени от клинично значими, условно патогенни бактериални видове и гъби.

List of abstracts of the publications of Assoc. Prof. Dr. Ivanka Stankova

On the competition for the academic position of "Professor" in Natural sciences, mathematics and informatics, professional field „4.2. Chemical Sciences” (Bioorganic Chemistry, Chemistry of Natural and Physiologically Active Substances - Chemistry of Medicinal Products), published in the State Gazette No97/13.11.2020 for the needs of the South-West University "Neofit Rilski" - Blagoevgrad

My main scientific contributions and research are in the field of medical chemistry and all of them are related to the synthesis of new biomolecules with different biological activity, their characterization, determination of their hydrolytic stability in model solutions simulating conditions in the human body and relationships structures/biological activity. Developments relate in particular to chemical modifications of drugs, in particular those with antiviral activity, used against HIV-1, antiherpes and influenza drugs. The other part of the scientific contributions is aimed at creating hybrid molecules containing two pharmacophores with simultaneous antiviral action and inhibiting the development of Parkinson's disease, as well as those inhibiting the development of Alzheimer's disease and antibacterial activity. Both types of hybrid molecules are currently filed as patent applications.

In the context of the above, my scientific contributions can be summarized in the following areas:

- 1. Synthesis and characterization of modified drug molecules, biological studies and derivation of some structure-activity dependencies.*
- 2. Study of the stability of newly synthesized, modified drug molecules.*
- 3. Structural analyzes of modified drug molecules using spectral methods.*

1. Synthesis, biological research and derivation of some structure-activity dependences on:

Drugs with anti-HIV-1 activity

Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) is a disease of the human immune system caused by the human immunodeficiency virus (HIV). The disease progressively reduces the effectiveness of the immune system, making the patient vulnerable to opportunistic infections and tumors. Today, AIDS is pandemic and in 2007 the number of patients worldwide was estimated at 33.2 million and the number of victims of the disease at 2.1 million per year.

Antiretroviral therapy reduces both mortality and morbidity from HIV infection - with consistent use of drugs prescribed as part of therapy, the patient can expect a long and full life as in other people; life expectancy with antiretroviral therapy may reach that of a healthy person.

Ivanka G. Stankova, K. Stanoeva, A. Hinkov, I. Alexiev, P. Genova-Kalou, R. L. Chayrov, R. Argirova. *Amino acid and peptide esters of abacavir: synthesis and activity against human immunodeficiency virus type 1 in cell culture*, Medicinal Chemistry Research, 21, 12, 4053–4059, **2012**. – **Q1**

One of the modern drugs used in the treatment of HIV-positive patients is abacavir. The drug shows side effects in about 4% of patients - hypersensitivity reactions, risk of cardiovascular disease and others. A possible way, widely used in medical practice, to minimize side effects is by modifying the chemical structure.

- Three esters of abacavir containing the amino acid glycine and the peptides glycylglycine, glycyglycylglycine were synthesized and their activity on the replication of HIV-1 III B in model MT-4 cells was investigated.
- One of the newly synthesized esters, Gly-abacavir, showed low cytotoxicity and high anti-HIV-1 activity in the model cells used, as well as low mitochondrial toxicity and a high genetic barrier of resistance.

Drugs with antiherpes activity

The worldwide incidence of HSV-1 and / or HSV-2 in the elderly varies between 60% and 95%. The drugs used against HSV-1 and / or HSV-2 are acyclovir, which is characterized by low bioavailability, and the newer generation of ganciclovir and penciclovir.

R. Chayrov, E. Stylos, M. Chatziathanasiadou, K. Chuchkov, A. Tencheva, A. Kostagianni, T. Milkova, A. Angelova, A. Galabov, S. Shishkov, D. Todorov, A. Tzakos, **I. Stankova**. *Tailoring acyclovir prodrugs with enhanced antiviral activity: rational design, synthesis, human plasma stability and in vitro evaluation*, **Amino acids**, vol. 50,1131, **2018 – Q 1**

Bile acids cholic, deoxycholic and chenodeoxycholic are used as transport systems for cell membrane transport in order to improve the pharmacokinetic profile of various biologically active molecules (acyclovir, penciclovir, ganciclovir).

Three esters of the antiherpes drug acyclovir (ACV) with cholic, chenodeoxycholic and deoxycholic acids were synthesized;

- The compounds were tested in vitro against herpes simplex type 1 and type 2 (HSV-1, HSV-2);
- The antiviral activity of the three bile acid esters was tested in vitro against Epstein-Barr virus (EBV);
- Plasma stability was studied by liquid chromatography, combined mass spectrometric detection;
- In vitro cytotoxicity was studied to establish the biological profile of ACV esters.
- The observed antiviral activity shows that ACV-cholate has improved antiviral activity from ACV against HSV-1, and eight times higher activity against ACV against HSV-2;
- ACV-chenodeoxycholate has six times higher antiviral activity against HSV-2 compared to ACV;
- ACV-chenodeoxycholate has the highest activity against Epstein-Barr virus;
- In human blood plasma the highest stability is shown by ACV-deoxycholate;

- The results of the study show that the modification of acyclovir with bile acids is a successful modification to create prodrugs with increased antiviral activity.

K. Chuchkov, R. Chayrov, A. Hinkov, D. Todorov, K. Shishkova, **I. Stankova**, *Modifications on the heterocyclic base of ganciclovir, penciclovir, acyclovir - syntheses and antiviral properties*, **Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids**, 20 Apr 2020, <https://doi.org/10.1080/15257770.2020.1725043> - Q3

Modifications similar to those of the bile acid acyclovir molecule in other anti-herpes drugs ganciclovir and penciclovir did not show improvement in their pharmacokinetic properties.

- Esters of ganciclovir, penciclovir with bile acids cholic, chenodeoxycholic and deoxycholic were synthesized and tested in vitro against herpes simplex type 1 and type 2 (HSV-1, HSV -2);
- The results showed that the modified analogues of ganciclovir and penciclovir were less active against HSV-1 and HSV-2 compared to the parent compounds;
- CC₅₀ for ganciclovir deoxycholate corresponds to CC₅₀ of other analogues and its activity is lower than that of ganciclovir;

The results obtained show that these modifications do not improve the bioavailability of nucleoside analogues in cells.

Drugs with anti-influenza activity

Influenza is a serious viral infection of the respiratory tract. According to the WHO, the flu virus is responsible for the illness of 3 to 5 million people and the deaths of 250,000 to 500,000 people a year, caused both directly by the virus and by secondary infections. In the last century, three major pandemics, the H1N1 virus in 1918-19 ("Spanish flu"), the H2N2 virus in 1957, and the H3N2 virus in 1968, cumulatively caused the loss of approximately 50 million people. The latest pandemic - also known as "Mexican flu" in 2009 (influenza virus type A, H1N1, "swine flu"), proved to be relatively harmless, while the highly pathogenic "bird flu" virus (H5N1) has been a cause for serious concern in recent years, because easily passes from animals to humans.

There are currently two main (proven) therapeutic approaches for treating influenza or preventing infections: 1) vaccines and 2) the use of antivirals. The intensive work in the last 40 years in the study of substances with an inhibitory effect on various targets of influenza viruses

has led to the establishment in clinical practice of mainly two groups of compounds: M2 blockers and neuraminidase inhibitors.

Ivanka G. Stankova, Kiril Chuchkov, Rumen Georgiev, Angel S. Galabov. *Amantadine and rimantadine analogues with peptidomimetics*. Proceedings of the 32nd European Peptide Symposium, 488-489, **2012**.

Ivanka Stankova, Kiril N. Chuchkov, Rumen K. Georgiev, Galya Ivanova, Angel S. Galabov. *New Adamantane Analogues - Synthesis and Antiviral Activity*. Five International Scientific Conference FMNS-2013, Blagoevgrad, vol 4, pp, 3-9, **2013**.

Kiril Chuchkov, Valeria Ivanova, Angel Galabov and **Ivanka Stankova**, *Design of Amino Acid Esters of Amantadine*, Proceeding of the 33rd EPS, 104-105, **2014**.

Kiril Chuchkov, Ventzislav Zahariev, Angleg Galabov, **Ivanka Stankova**, *Chemical Modifications of Inhibitors of M2 Ion Channel of Influenza Virus*, Proceeding of the 33rd EPS, ISBN 978-619-90427-2-4, 106-107, **2014**.

Radoslav Chayrov, Spaska Rizova, Vasilka Markova, Angel Galabov, **Ivanka Stankova**, *Synthesis and antiviral activity of the arginine derivatives of influenza virus drugs*, Proceeding of the 33rd EPS, ISBN 978-619-90427-2-4, 102-103, **2014**.

R. Chayrov, V. Veselinova, V. Markova, L. Mukova, A. Galabov, I. **Stankova**, *Synthesis and Antiviral Activity of Some Amino Acids Derivatives of Influenza Virus Drugs*, Chemistry, **Bulgarian Journal of Science Education**, 24, 3, 348-354, **2015 – Q3**

R. Chayrov, L. Mukova, A. Galabov, Y. Mitrev **I. Stankova**, *Amantadine analogues – synthesis and biological activity*, **Bulgarian Chemical Communications**, 49, 61-63, **2017 – Q 4**

R. Chayrov, N. Parisi, M. Chatziathanasiadou, E. Vrontaki, K. Moschovou, G. Melagraki, H. Sbirikova-Dimitrova, B. Shivachev, M. Schmidtke, Y. Mitrev, M. Sticha, T. Mavromoustakos, A. G. Tzakos, **I. Stankova**, *Synthetic Analogues of Aminoadamantane as Influenza Viral Inhibitors-In Vitro, In Silico and QSAR Studies*, **Molecules**, 25, 17, 3989, **2020**, doi:10.3390/molecules25173989 – **Q1**

Amantadine and rimantadine are antiviral drugs from the group of M2 blockers used in the treatment of influenza virus. Amantadine is also used in the treatment of Parkinson's disease.

Nineteen amino acid analogues of amantadine (Amt) and rimantadine (Rim) were synthesized and their antiviral activity was investigated in vitro against influenza A virus strain H3N2.

- The highest antiviral activity, combined with low cytotoxicity, was shown by the amino acid derivative of rimantadine with glycine.
- The same derivative showed extremely high in vitro stability in human blood plasma for 24 hours.
- Its thermal stability is established by means of differential and gravimetric thermal analysis.

- The crystal structure of glycylic-rimantadine revealed that it crystallizes in the orthorhombic space group Pbcn.
- The structure-activity relationship for this class of compounds with CoMFA (Molecular Field Comparative Analysis) 3D-Quantitative Structure Activity Relations (3D-QSAR) studies used to predict the biological activity of synthetic molecules have been established.
- Molecular docking studies were performed, revealing structural requirements for the creation of active molecules.

I. Stankova, K. Chuchkov, R. Chayrov, L. Mukova, A. Galabov, D. Marinkova, D. Danalev, *Adamantane derivatives containing thiazole moiety: synthesis, antiviral and antibacterial activity* **Int. Journal Peptide Research Ther.**, DOI 10.1007/s10989-019-09983-4, **2019 - Q3**

Analogues of the adamantane derivatives amantadine and rimantadine containing thiazole motif were synthesized and their antiviral activity against influenza strain H1N1 and antibacterial activity against model strains gram positive (*Bacillus cereus*), gram negative (*Escherichia coli* and 33 microorganisms) were studied. .

I. Stankova, R. Chayrov, E. Tzvetanova, A. Georgieva, A. Alexandrova. *Comparative study of the antioxidant capacity of some amantadine derivatives*, **Current Topics in Peptide & Protein Research**, 20, 67-72, **2019**, – **Q4**

Three newly synthesized amantadine derivatives with aromatic amino acids were synthesized and tested for their antioxidant activity using chemical systems that generate superoxide anionic radicals and hydroxyl radicals, as well as by applying the DPPH test.

Kiril Chuchkov, Silvia Nakova, Lucia Mukova, Angel Galabov and **Ivanka Stankova** - *New derivatives of oseltamivir with bile acids*. Chemistry: **Bulgarian Journal of Science Education**, 24, 3, 355-362, **2015** – **Q3**

The study is related to modifications of the modern preparation from the group of neuraminidase inhibitors – oseltamivir.

- Oseltamivir derivatives with bile acids cholic, deoxycholic and chenodeoxycholic acids were studied;

- Structural modifications have been made to the chemical structure of the neuramidase inhibitor oseltamivir to increase its bioavailability;
- Analogs were tested for antiviral activity against A / Aichi / 2/68 (H3N2) virus.
- In-depth studies have shown that the newly synthesized compounds show no effect against influenza A (H3N2) virus.

Drugs used against Alzheimer's disease

Many neurodegenerative diseases result from the progressive loss of neuronal structure or function, including the killing of neurons. These are difficult-to-treat diseases that lead to progressive degeneration and /or loss of nerve cells. Progressive cognitive impairment, termed Alzheimer's disease, is currently considered to be an incurable, degenerative and terminal disease. Treatment is usually symptomatic - antidepressants, anxiolytics, neuroleptics, cholinesterase inhibitors and other symptoms are used. However, as the disease results from impaired signaling in the brain, in which the so-called N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors play an important role, agents have recently been used to bind (NMDA) receptors to brain cells and blocking the activity of the neurotransmitter glutamate. One such agent is memantine, an adamantane derivative, which is the only drug approved by the US Food and Drug Administration (FDA) for the treatment of Alzheimer's disease (BA) (Aracava et al., 2005).

On the other hand, a study by Yu et al., 2015, designed to identify unknown antimicrobial properties of known drugs, shows for the first time that memantine can effectively block bacteremia and meningitis caused by *E. coli* in a mouse model. The results of the study show that memantadine has the potential to treat meningococcal infection, but it targets the host rather than the bacterial pathogen because it does not show antimicrobial activity *in vitro*.

R. Chayrov, Al. Tencheva, H. Sbirikova-Dimitrova, B. Shivachev, A. Kujumdzieva, Tr. Nedeva, **I. Stankova**, *Antibacterial, and Antifungal Activities of Hybrid Molecules Based on Alzheimer Disease Drugs and Bearing an Amino Acid Fragment*, November 2019, Conference: **The 23rd International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry**, DOI: 10.3390/ecsoc-23-06602 -Q1

The aim of the present study is to develop new compounds - memantine derivatives with antimicrobial activity, intended for use in the treatment of bacterial and fungal infections in patients with Alzheimer's disease.

- To achieve this goal, a series of six memantine hybrid molecules characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR, MS, X-ray analysis were synthesized and tested for activity in Alzheimer's disease as well as an antimicrobial agent;
- The studied memantine analogues with amino acids show an inhibitory effect on individual microorganisms;
- Val-memantine shows greater activity against Gram-negative bacteria and against Gram-positive (*Bacillus megaterium*);
- β-Ala-memantine has a high effect against *Salmonella enterica*, and Gly-Thiazole has a good inhibitory effect against Gram-positive bacteria;
- 4-F-Phe-memantine is effective in all strains of microorganisms studied. The inhibitory effect is comparable to that of tetracycline and nystatin.
- 4-F-Phe-memantine is the most promising as a new anti-infective therapeutic agent against clinically significant, opportunistic bacteria in patients with moderate to severe dementia of the Alzheimer's type.

Aleksandra Tencheva, Rui Liu, Tatyana V. Volkova, Radoslav Chayrov, Yavor Mitrev, Martin Štícha, Yuhuan Li, Hailun Jiang, Zhuorong Li, **Ivanka Stankova**, German L. Perlovich, *Synthetic analogues of memantine as neuroprotective and influenza viral inhibitors: in vitro and physicochemical studies*, **Amino acids**, 52,1559–1580, 2020 –<https://doi.org/10.1007/s00726-020-02914-4> - **Q1**

Memantine is a drug used to treat various pathologies, including Alzheimer's disease. In the present study, a series of memantine derivatives comprising amino acid residues were synthesized and their neuroprotective activity against Alzheimer's disease was investigated in vitro, including the effects on Aβ toxicity resistance, toxicity, oxidative stress, hypoxia, and neuroinflammation.

- The cytotoxicity of the compounds was investigated by CPE analysis. TC50 and IC50 were determined by the Reed and Muench method.
- Solubility and distribution were measured. The permeability of the compounds was examined using a Franz diffusion cell and a Permeapad 6a barrier. These compounds show good neuroprotective effects against copper-induced A-toxicity and glutamate-induced excitotoxicity.

- They also show the ability to inhibit the inflammatory release of cytokines from activated microglia and potential anti-neuroinflammatory effects.
- The two most promising compounds H-4-F-Phe-memantine and H-Tyr-memantine show activity comparable to memantine hydrochloride.
- High solubility in phosphate buffer has been found. The distribution coefficients indicate optimal lipophilicity.
- The obtained results show a new class of memantine derivatives as potential drug compounds. Based on the experimental results, correlations were obtained between biological, physicochemical parameters and structural descriptors. Correlation equations have been proposed to predict the properties of the new memantine derivatives, knowing only the structural formula.

IG Stankova, AI Stoilkova, RL Chayrov, ER Tsvetanova, AP Georgieva, AV Alexandrova, *In vitro antioxidant activity of memantine derivatives containing amino acids*, **Pharmaceutical Chemistry Journal**, **54**, 268–272, **2020** – Q4

Alzheimer's disease (AD) is the most common type of dementia in the elderly. Since oxidative stress is an important feature of AD, it can be assumed that modifications of drugs with substances with antioxidant properties may lead to a beneficial effect.

- The aim of this study was to investigate the antioxidant activity of 7 memantine analogues (MEM) with Gly, Ala, β -Ala, Val, Phe, Phe (4-F) and Gly-Gly.
- The antioxidant capacity of MEM analogs was tested in chemical systems generating superoxide anion (\bullet O₂⁻) and hydroxyl (\bullet OH) radicals, and by applying the DPPH test.
- The results showed a negligible effect of the substances on the reduction of DPPH \bullet . Phe-containing derivatives have a protective effect on OH-induced deoxyribose degradation and have the ability to chelate iron ions.
- In conclusion, of the tested compounds Phe-MEM exhibits good antioxidant activity and a promising effect in the treatment of AD.

2. Study of chemical stability of modified drug molecules

Ivanka Stankova, Kiril Chuchkov, Radoslav Chayov. *Chemical stability of esters of acyclovir with amino acid and cholic acids*. Proceedings of the 32nd European Peptide Symposium, 490-491, **2012**.

Hydrolytic stability of acyclovir esters: 4-F-phenylalanylacyclovir (R, S), acyclovirdeoxycholate and acyclovirhenodeoxycholate have been studied in model systems that mimic the human body at pH = 1 and pH = 7.4 and a temperature of 37 ° C.

- An HPLC method has been developed to quantify the concentration of test substances.
- The amino acid ester of acyclovir is relatively unstable at pH = 1, but at the same pH the bile acid ester is stable.
- At pH = 7.4 all tested compounds are more stable than valaciclovir ($t_{1/2} = 13$ h). At pH = 1, DCh-ACV and CCh-ACV are more stable than valaciclovir.
- Acyclovirhenodeoxycholate is the most promising candidate for a prodrug with high activity and chemical stability.

K. Chuchkov, D. Mitreva, V. Markova, **I. Stankova**, *Chemical stability of thiazole analogues of rimantadine and amantadine*, **Bulgarian Chemical Communications**, 49, 58-60, 2017 – Q4

Two classes of antiviral agents against influenza virus are currently used: neuraminidase inhibitors (oseltamivir, peramivir, zanamivir) and M2 proton channel blockers (amantadine and rimantadine). As vaccination, existing antiviral therapy and the rapid emergence of resistance to proton M2 channel blockers cannot guarantee protection against the influenza virus, with deaths due to virus infection still occurring worldwide, the fight against this virus remains an important task in healthcare, which requires the creation of new drugs.

- In the search for new prodrugs effective against influenza virus, thiazole analogues with amantadine and rimantadine (RS (-1- (1-adamantyl) ethanamine) have been synthesized and their antiviral activity has been studied.
- Their chemical stability was studied at pH 1 and 7.4 and a temperature of 37 ° C. An HPLC method has been developed to quantify the concentration of test substances.

Tencheva, R. Chayrov, P. Mandjukov, D. Danalev, **I. Stankova**, *Hydrolytic Stability of New Amino Acids Analogues of Memantine*, **Sci. Pharm.** 88, 38, 3-11, 2020, doi:10.3390/scipharm88030038 – Q2

The hydrolytic stability of new amino acid-modified memantine analogues at different pHs corresponding to human biological fluids and organs was studied. Memantine is a non-competitive

antagonist of the N-methyl-d-aspartate receptor with low to moderate affinity. In addition, it is the first representative of a new class of drugs for Alzheimer's disease (AD) that act on the glutamatergic system by blocking N-methyl-D-aspartate receptors. The tested compounds include modified memantine with the following amino acids: alanine, β -alanine, glycine, phenylalanine and valine.

- Hydrolytic stability is determined at two different pH values of 2.0 and 7.4 at 37 ° C, similar to those in the stomach and blood plasma. A specially developed UV-VIS spectrophotometric method for quantifying the concentrations of unchanged compounds has been applied in kinetic studies.
- Val-MEM is most stable in neutral medium and at 37 ° C with $t_{1/2} = 50.2$ hours.
- The Phe-MEM compound also has very good hydrolytic stability with $t_{1/2} = 29.6$ h.
- The order of the other compounds is: Val-MEM \gg Phe-MEM \gg Ala-MEM \approx Val-MEM $>$ β -Ala-MEM.
- Ala-MEM and Gly-MEM are the most stable compounds at pH 2.0 with almost identical values for $t_{1/2} = 17.8$ h and $t_{1/2} = 16.3$ h, respectively.
- The stability of the test compounds in acidic conditions is relatively lower than in neutral. They are arranged as follows: Ala-MEM \approx Gly-MEM $>$ Val-MEM \approx Phe-MEM \approx β -Ala-MEM.
- All compounds have relatively good hydrolytic stability for more than 10 hours under both neutral and acidic conditions, which is quite sufficient to pass into the bloodstream and be used as potential antimicrobial agents.

3. Structural analyzes of modified drug molecules using spectral methods

M Šticha, RL Chayrov, **IG Stankova.** *Understanding the Fragmentation Pathways of Carbocyclic Derivatives of Amino Acids by Using Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry*, **Analytical Letters** 52 (13), 2069-2076, **2019, Q3 – 15 T.**

- Aminoacyl derivatives of the aminoadamantane amantadine and rimantadine were synthesized and their antiviral properties were investigated.
- Studies of such compounds using high resolution mass spectrometry are not known.

- There are two main pathways of fragmentation. For rimantadine derivatives, this is rimantadine and N- (1-adamantyl) ethylformamide.
- Similarly, amantadine derivatives are amantadine and N- (1-adamantyl) formamide. Fragmentation of the aminoacyl group is common to all compounds tested.
- The study of the mechanism of fragmentation can bring a new idea for the characterization of these compounds.

Y. Mitrev, R. Chayrov, **I. Stankova**, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Adamantane Derivatives: Interpretation of Proton and Carbon Chemical Shifts*, **Spectroscopy Letters**, 53, 7, 489-493, **2020 - Q3**

- 12 adamantane amides with potential biological activity were studied by nuclear magnetic resonance.
- The assignment of proton and carbon-13 chemical shifts shows similar trends in their spectral behavior, along with some specific structural changes in the case of aromatic substituents.
- Observations provide a good basis for future research, either as a tool to support the database for the determination of new compounds or as a starting point for configuration and conformation analyse.

Patent applications

1. Adamantane derivative with antiviral and antiparkinsonian activity – 2018.

The invention relates to an adamantane derivative with antiviral and anti-Parkinsonian activity, useful for the prevention and treatment of diseases associated with impaired dopamine synthesis and excretion.

2. Inhibitor of viral neuraminidase and M2 proton channel - 2018.

The invention relates to a viral neuraminidase inhibitor and a M2 proton channel blocker, a method for its preparation and its use for the treatment of viral infections.

3. NMDA-receptor antagonist with antimicrobial activity – 2020.

The invention relates to an antagonist of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors with antimicrobial activity, useful in patients with Alzheimer's disease with bacterial and fungal infections caused by clinically significant, opportunistic bacterial species and fungi.