

СПРАВКА ЗА ОРИГИНАЛНИТЕ НАУЧНИ ПРИНОСИ

на д-р Ивайла Недялкова Динчева, гл. асистент в отдел „Агробиотехнологии”,
Агробиоинститут-София, ССА

Основните приноси от научно-изследователската ми дейност имат фундаментален и научно-приложен характер. Те са резултат от интересите ми към изучаване на природни продукти, използвани в народната медицина като средства за превенция и лечение на различни заболявания. Базиран са на интердисциплинарни изследвания.

В научен аспект:

1. За пръв път е направен сравнителен фитохимичен анализ, изследвани са антимикробната и антиоксидантната активност на етерични масла (ЕМ) от галбули (шишарки или плодчета) на шестте вида хвойна, естествено разпространени в България: *Juniperus communis* L. (обикновена хвойна), *J. oxycedrus* L. (червена хвойна), *J. sibirica* Burgsd. (сибирска хвойна), *J. sabina* L. (казашка хвойна), *J. pygmaea* C. Koch. (алпийска хвойна) и *J. excelsa* M. Bieb. (дървовидна или градинска хвойна). Получените резултати от изследванията на ЕМ могат да бъдат използвани за промишлени цели, както и да помогнат при процесите на разработване на политика по отношение опазването на природните ресурси.

2. Въз основа на проведени газ-хроматографски и мас-спектрални на ЕМ от габули (шишарки или плодчета) на *Juniperus communis* L. (обикновена хвойна), *J. sabina* L. (казашка хвойна) и *J. pygmaea* C. Koch. (алпийска хвойна) и *J. excelsa* M. Bieb. (дървовидна или градинска хвойна) с произход от България, Сърбия и Словакия е установено, че трите вида хвойна са отделни видове, в противовес на твърденията на някои автори, които смятат *J. sabina* L. и *J. pygmaea* C. Koch за подвидове на *J. communis*.

3. За първи път е проучен химичния състав, антимикробната и антиоксидантната активност на фракции от ЕМ на *Juniperus communis* L., и *J. excelsa* L., получени в различни времеви рамки при процеса хидродистилация. Фракциите от

етеричните масла на двата вида бяха получени в осем последователни времеви диапазона (0-3, 3-5, 5-10, 10-20, 20-40, 40-80, 80-160 и 160-240 мин. В резултат на изследването бе установено, че от ЕМ на *J. communis* L. и *J. excelsa* L. могат да се получат фракции с определен химичен състав и биологична активност.

4. Осъществен е сравнителен фитохимичен анализ, изследвани са антимикробната и антиоксидантната активност на ЕМ от галбули на *J. oxycedrus* L. с произход България и Сърбия. Видът е известен както с голямо морфологично и химично изменение, така и със спорен таксономичен статус. На базата на количествено определяне на морфологичните вариации при листата бе установено, че няма значима разлика между средната ширина при 6-те комбинации (местоположение x пол), но такава бе отчетена между средните дължини. В проучването ни, нито една от изследваните популации нямаше по-висока концентрация на лимонен спрямо α -пинен, което показва, че флората на двете страни (България и Сърбия) включва именно *J. oxycedrus*, а не съобщения по-рано *J. deltoides*.

5. Установени са регресионни модели на кинетика за добив и състав на ЕМ от *Ruta graveolens* и *Hyssopus officinalis* subsp. *Aristatus*, получени чрез фракциониране при хидродистилация с апарат тип Клевенджър. Потвърдена бе поставената хипотеза, че посредством съчетаване на отделни фракции от ЕМ, може да се получи продукт с подходящ състав, за различни приложения в индустрията.

6. Посредством ГХ-МС бе определен химичния състав на ЕМ от анасонов исоп (*Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze) - лечебно растение, което се използва и като подправка. Изследвани бяха антиоксидантната, антимикробната и ацетилхолинестеразната активност на ЕМ, анасонов отпадък и воден екстракт, получен след дестилацията. Чрез ВЕТХ анализи, количествено бяха определени пентациклични тритерпени, флавоноиди, розмаринова киселина в отпадъка и екстракта.

7. За първи път бяха изследвани ЕМ и хидрозолите на два сорта мускадиново грозде (*Muscadinia rotundifolia* (Michx.) Small.), получени чрез хидро-дестилация на цветове и кожици от плодовете с цел оценка на химичния им състав и биологична активност. Получените резултати са основа за бъдещи изпитвания, фокусирани върху по-доброто разбиране на молекулярните и регулаторни механизми,

участващи в биосинтезата на ароматни вещества и тяхното натрупване в мускадиновото грозде.

8. Оценен бе ефекта от влиянието на биологични и конвенционални торове върху растежа на два румънски сорта обикновен босилек (*Ocimum basilicum* L. - зеленолистният „Aromat de Buzau” и пурпурния на цвят „Violet de Buzau”. Проследени бяха физиологичните характеристики, химическия профил и добивът на ЕМ. Резултатите показаха, че конвенционалните торове повишават свежия добив, докато биологичните торове повлияват положително състава на ЕМ, което води до повишено качество на културите.

9. Въз основа на валидиран ГХ-МС метод бе изследван липидния състав на медицински растения, сред които: *Urtica dioica* L., *Tanacetum vulgare* L., *Silene vulgaris* (Moench) Garcke и *Rosa canina* L. cv. Plovdiv 1, *Taraxacum officinale* Weber ex F.H. Wigg., *Ficus carica* L. Установените аполярни метаболити принадлежат към различни химични класове като: наситени и ненаситените мастни киселини, пентациклични тритерпени и др. Получаването на екстракти от листа на глухарче и смокиня беше оценено като потенциален и ценен източник на биологично активни липидни компоненти за защита на кожата от стресовите условия на околната среда и реактивни видове кислород. Изследваните екстракти могат потенциално да се използват за медицинска и натурална козметика и защита срещу преждевременно стареене на кожата. Проучването на екстракта от плодове на *R. canina* L. cv. Plovdiv 1 може да се разглежда като първото подробно изследване на биологичната активност и фитохимичния състав на този сорт.

10. Установено бе съдържанието на аполярни метаболити в микроводораслите *Chlorella vulgaris* H1993 and *Desmodesmus communis* H522 чрез ГХ-МС анализ. Микроводораслите притежават голям потенциал за натрупване на биоактивни компоненти, с важно значение за хранително-вкусовата, фуражната, фармацевтичната и козметичната промишленост, като източници на биогорива, пречистване на отпадъчните води и др. За да се използва напълно добитата биомаса, бяха приложени два последователни етапа от процедурата за екстракция на протеин и липиди от изтощената биомаса. Резултатите от

изследванията показаха, че е възможно да се получат 8-9,0% суров протеин и 21-24% липиди от изчерпаната суха биомаса на *D. communis* и *C. vulgaris*, съответно.

11. Проведен е сравнителен анализ на алкалоидния състав и ацетилхолинестеразната активност при 5 вида росопас *Fumaria* sp. (*F. officinalis*, *F. thuretii*, *F. kralikii*, *F. rostellata* и *F. schrammii*). Установена е висока степен на ацетилхолинестеразна инхибиторна активност, съпоставима и по-висока от тази на галантамина *F. Kralikii* (IC_{50} 0.13 ± 0.01 mg extract/mL). Проведеното изследване определя тези растения като нови перспективни източници на природни съединения, важни за лечението на невродегенеративни заболявания.

12. Доказано е влиянието на въглеродния източник върху растежа на hairy roots от *Arnica Montana* L. в *in vitro* среда. Изпитването на въглеродните източници като захароза, малтоза и глюкоза в различни концентрации рефлектира върху биосинтеза на монозахаридите и захарните алкохоли.

13. Представени са нови данни за съдържанието на каротеноиди в пет щамове от групата *Vischeria/Eustigmatos*, изолирани от местообитания в България и съхранявани в Алгалната колекция на Софийския университет (ACUS). Полученият модел с девет каротеноида, определени с ВЕТХ-МС и обобщението на литературните данни позволи актуализация на знанията за хемотаксономичните характеристики на *Eustigmatophyceae* с общо 47 пигмента, докладвани за групата, от които 37 са каротеноиди. Въз основа на наблюдаваните различия в пигментното съдържание при членовете в отделните екологични групи от видове, бе установено обособяването на два основни типа пигменти в клас *Eustigmatophyceae*, като водният тип е допълнително разделен на подтипове - сладководни и морски пигменти.

14. Изследвани са цитотоксичната, антихерпес симплекс вирусната (HSV) и антибактериалната активност на тотален екстракт от сукулентното растение *Graptopetalum paraguayense* E. Walther (GP). По отношение на цитотоксичността, тестваният екстракт прояви широк концентрационен диапазон на клетъчна толерантност, демонстрира значителен инхибиращ ефект спрямо HSV-1 щам Victoria в концентрация 0,0001 mg/mL, равна на максималната нетоксична концентрация (с 97,5% защита на клетките). Спрямо резистентните на ацикловир HSV-2 щам PU и HSV-2 щам Bja, антивирусната активност и селективността на

екстракта са много ниски, със стойности на EC_{50} от 0,1 до 0,01 mg/mL, а индексът на селективност варира от 25 до 250. GP екстрактът проявява селективна инхибиторна активност и върху растежа на грам-положителни бактериални патогени, като срещу *Staphylococcus aureus* е най-чувствителен. Освен това предотвратява образуването на биофилм MRSA до 50% при концентрация 1,6 mg/mL и до 90% при концентрация 2,5 mg/mL. Налага се провеждането на допълнителни изследвания, насочени към изолиране на биологично активните съединения с последващо задълбочено проучване на техните анти-HSV и антибактериални механизми на действие.

В научно-приложен аспект:

1. Разработени са методи за определяне на фенолни вещества на базата на твърдофазова екстракция, последваща ВЕТХ-ДАД детекция и ВЕТХ-ЕСЙ-МС/МС анализи за количествен мониторинг на полифенолния профил на растителни източници като лекарствени субстанции.
2. Валидирани са чувствителни и бързи хроматографски, универсално приложими методи (ГХ-МС и ВЕТХ-ЕСЙ-МС/МС) за анализ на вещества, принадлежащи към различни химични класове: терпени, пентациклични тритерпени, флавоноиди, органични и аминокиселини, въглехидрати, участващи в многокомпонентни хранителни, фармацевтични, козметични или промишлени продукти.
3. Създадени са локални мас-спектрални библиотеки, включващи MS и MS² спектрите на 90 вещества, принадлежащи към от основните класове химични съединения: фенолни киселини (22 бр.), флавонолни гликозиди (6 бр.), антоциани (15 бр.), танини (12 бр.), наситени и ненаситени киселини (20 бр.) и пентациклични тритерпени (15 бр.). Базата от данни позволява бързо и лесно идентифициране на съответните вещества в различни образци.

гр. София

08.05.2020 г.