



Информация за изпълнение на етап на проект

Наименование на конкурса:
Конкурс за финансиране на научни изследвания – 2017 г.
Основна научна област:
Химически науки
№ на договор:
ДН 19/16
Начална и крайна дата на проекта:
20.12.2017 – 20.12.2020
Заглавие на проекта:
Изследване на химичния състав, антивирусната и антибактериална активност на екстракти от растението <i>Graptopetalum paraguayense</i> E. Walther (<i>Crassulaceae</i>)
Базова организация:
Институт по органична химия с център по фитохимия, Българска Академия на Науките
Партньорски организации:
Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София
Ръководител на научния колектив (академична длъжност, научна степен, име):
гл. ас. д-р Надежда Маркова
Общ размер на отпуснатото финансиране за първи етап:
60 000 лв.
Интернет страница на проекта (ако има такава):
Научни публикации по проекта:
M. M. Zaharieva, P. Genova-Kalou, I. Dincheva, I. Badjakov, S. Krumova, V. Enchev, H. Najdenski, N. Markova, <i>Biotechnol. Biotechnol. Equip.</i> (2019) – in press.



Описание на очакваните резултати по проекта (до 1 стр. в рамките на полето по-долу):

В резултат на изпълнението на проекта се очаква:

- Да се определи химичният състав на отделните фракции от водните и алкохолни екстракти на растението *Graptopetalum paraguayense* E. Walther, показващи биологичната активност.
- Да се разработи и оптимизира сложна методология (алгоритъм) за антибактериални и антивирусни изследвания на общ екстракт, активните фракции и изолираните от тях природни съединения.
- Да се създаде и разработи интегриран комплекс от експериментални и теоретични методи за изясняване на структурата на изолираните съединения от активните фракции на екстрактите от *Graptopetalum paraguayense* E. Walther.
- Обогатяване на знанията за медицинските растения, които представляват интерес за етнофармакологията, класическата и алтернативната медицина.

Намирането на нов клас биологично активни вещества (БАВ) може да бъде от голяма практическа полза за химическата и фармацевтичната промишленост. Изолираните съединения от растенията, имащи биологична активност биха могли да доведат до създаването на нови лекарствени средства за превенция и лечение на различни заболявания, включително бактериални и вирусни инфекции. Предложените изследвания са пионерни за България и Европа и нямат аналог в научния свят.

Поради иновативността на биологичния модел, включен в проектното предложение, както и липсата на информация в научната литература за химичния състав, антивирусната и антибактериална активност в научния екип няма чуждестранни участници.



Членове на научния колектив

<i>Организации/участници¹</i>	<i>Бележка²</i>
<i>Базова организация:</i>	
Институт по органична химия с център по фитохимия, Българска Академия на Науките	
<i>Ръководител на научния колектив</i>	
гл. ас. д-р Надежда Маркова	
<i>Участници:</i>	
проф. дхн Венелин Енчев доц. д-р Снежанка Бакалова гл. ас. д-р Мирослав Рангелов ас. Нина Стоянова-Нанкова, млад учен гл. ас. д-р Ивайла Динчева, Агробиоинститут - София доц. д-р Илиан Баджаков, Агробиоинститут - София гл. ас. д-р Мая Захаријева, ИМикБ-БАН чл. кор. проф. дн Христо Найдeнски, ИМикБ-БАН	
<i>Партньорска организация:</i>	
Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София	
<i>Участници:</i>	
доц. д-р Петя Генова-Калу гл. ас. д-р Стефка Крумова, млад учен	
<i>Партньорска организация:</i>	
<i>Участници:</i>	
<i>Партньорска организация:</i>	
<i>Участници:</i>	

¹ Отбележете академичната длъжност, научната степен, име и фамилия на всеки участник като включите и участниците, които са работили по проекта не през целия период за изпълнение на проекта

² Отбележете дали участникът в колектива е млад учен (МУ), постдокторант (ПД), докторанти (ДО) или студенти (СТ), или учен от чужбина (УЧ).



Постигнати резултати от изпълнението на проекта и кратък анализ на тяхната приложимост (до 1 стр. в рамките на полето по-долу)

Graptopetalum paraguayense E. Walther (GP) е вид сукулентно растение от семейство *Crassulaceae*. В литературата има изследвания, свързани с различни негови приложения в медицината. То проявява противовъзпалително, антиоксидантно и антинеопластично действие и повлиява: заболявания на черния дроб и панкреаса, хипертония, овалбумин-индуцирана астма, диабет и др. Въпреки засиления интерес и изследвания върху приложението на растението, има малко данни за неговия химичен състав и липсва информация за антимикробно действие на *Graptopetalum paraguayense* E. Walther. В рамките на първия етап на проекта беше получен общ метанол/вода (75/25) екстракт от листата на GP и е направен метаболитен профил на растението. Бяха изолирани три основни фракции метаболити: липиди (мастни киселини, стероли, терпеноиди), полярни метаболити (аминокиселини, захари и др.) и фенолни киселини. Както общия екстракт, така и получените фракции бяха тествани върху различни щамове вируси и бактерии с цел да се изпита тяхното цитотоксично, антивирусно и антибактериално действие. Резултатите от изследването на цитотоксичността на тествания екстракт показаха висок диапазон на клетъчно поносими концентрации. Общият екстракт не е токсичен към клетъчни линии Vero (бъбрек на зелена маймуна) и RD (човешки рабдосарком) дори и във високи концентрации. Същото се отнася и за трите фракции. Общият екстракт беше изпитан върху два вида щамове херпесни вируси: чувствителни (див тип) и резистентни (мутанти) към ацикловир. Към първия тип вируси GP екстрактът показва значителен инхибиращ ефект върху HSV-1 щам Victoria в концентрация 0.0001 mg/mL, равна на максималната нетоксична концентрация (с 97.5% предпазване на клетките). Към мутирания тип вирусен щам DD на HSV-1 антивирусната активност и селективността на екстракта бяха също високи – 65.5% протекция на клетките при $EC_{50}=0.001 \pm 0.01$ mg/mL и селективен индекс 25000, за разлика от тези на ацикловира - 10.8% при много по-висока $EC_{50}=0.02 \pm 0.05$ mg/mL. От изследваните фракции антивирусно действие към HSV-1 показваха липидната и особено фракцията с фенолните киселини. Екстрактът от GP беше тестван за антибактериален ефект върху панел от бактериални патогени по международния стандарт ISO 20776/1-2006: *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) NBIMCC 8327 и *S. pyogenes* SAIM 10535. Той показва селективна инхибираща активност върху растежа на грам-положителните бактериални патогени, като *S. aureus* е най-чувствителен. Екстрактът предотвратява и образуването на MRSA биофилм до 50% при концентрация 1,6 mg/ml и до 90% при концентрация от 2,5 mg/ml. При изпитванията върху трите фракции най-висока активност показва тази на фенолните киселини, като тази активност надвишава намерената за общия екстракт. Антимикробният ефект, демонстриран в нашите изследвания, вероятно е свързан с наличието на феноли, особено галова киселина. Установената активност на GP екстрактите е обещаваща за бъдещо развитие на хранителни добавки на базата на *G. paraguayense* E. Walther и следователно изисква по-нататъшни проучвания, насочени към изолиране на биологично активни съединения или смеси от тях с последващо задълбочено изследване на техния антимикробен механизъм на действие.

