



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 19/4
Начална и крайна дата на проекта:
10.12.2017- март 2021
Заглавие на проекта:
Зелени подходи за оползотворяване на зеленото богатство – природни дълбокоевтектични разтворители за извличане на биологичноактивни вещества от природни обекти
Базова организация:
Институт по органична химия с Център по фитохимия - БАН
Партньорски организации:
Институт по микробиология „Стефан Ангелов” - БАН Институт по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев” - БАН
Ръководител на научния колектив (академична длъжност, научна степен, име):
Член-кор. проф. дн Вася Стефанова Банкова
Общ размер на отпуснатото финансиране за първи етап:
59 600,00 лв
Интернет страница на проекта (ако има такава):
Научни публикации по проекта:
1. Boryana Trusheva, Hristo Petkov, Milena Popova, Lyudmila Dimitrova, Maya Zaharieva, Iva Tsvetkova, Hristo Najdenski, Vassya Bankova. “Green” approach to propolis extraction: Natural deep eutectic solvents. <i>Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences</i> , Q2 , 2019, accepted for publication.



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

Основният принос на проекта ще бъдат нови знания в областта на „зелената химия“ и извличането на биологичноактивни вещества от природни източници с помощта на нисколетливи, нетоксични и биосъвместими природни дълбокоевтектични разтворители (ПДЕР), както и нови данни за биологичната активност на получените разтвори и възможностите за прякото им приложение без отстраняване на разтворителя. В светлината на факта, че използването на ПДЕР в тази област е все още слабо проучено, потенциалът на проекта за създаване на нови знания с възможност да бъдат приложени в практиката е съществен. За изпълнението на предвидената програма е необходим мултидисциплинарен подход и съгласувана работа на научни групи с различни знания и умения в своите области. Проектът се опира на доказаните високи постижения и силни страни на всеки от участващите партньори. Успешното сътрудничество между отделните колективи, които имат познания в различни области на съвременната химия и биология, ще позволи подбор, организиране и задълбочено анализиране на получените резултати. Придобитото детайлно познаване на свойствата и молекулярния механизъм на действие на тези вещества, е предпоставка за прецизираното им прилагане върху модели на клетъчното остаряване в норма и патология.

Очакваните иновативни резултати включват:

- Нови данни за възможностите за извличане на биоактивни вещества с ПДЕР и заместване на токсичните органични разтворители при разработване на природни обекти, неизследвани в това отношение – прополис, мурсалски чай и живовляк;
- Нови данни за възможностите за извличане с ПДЕР на нефенолни биоактивни вещества от растителен материал;
- Нови данни за влиянието на ПДЕР върху биологичната активност на разтворените в тях растителни биоактивни вещества – антимикробиална, антиоксидантна, генопротективна, антиейджинг;
- Решаването на поставените задачи, свързани с извличане на различни по химичната си природа вещества от три различни природни източника, ще доведе до изработване на по-общ систематизиран подход към проучвания за прилагането на ПДЕР за извличане на биоактивните компоненти от лечебни растения.

Новите знания в областта на зелената химия имат потенциал за приложение в преработката на лечебни растения за получаване на комплекса от техните биологичноактивни вещества за различни практически цели – производство на хранителни добавки, функционални храни, козметични препарати. Като се има предвид изобилието на лечебни растения с високо качество в България, по-голямата част от които се изнасят без преработка, както и изявеното желание на индустрията да се увеличи делът на преработваните в страната суровини, резултатите от изпълнението на проекта могат да спомогнат за въвеждане на съвременни високопроизводителни технологии в индустрията. Приложението им също така ще допринесе за опазването на българската природа чрез въвеждането на иновативни технологии, щадящи околната среда.



Членове на научния колектив

<i>Организации/участници¹</i>	<i>Бележка²</i>
Базова организация:	
Институт по органична химия с Център по фитохимия - БАН	
Ръководител на научния колектив	
Член-кор. проф- дн Вася Банкова	
Участници:	
Проф. дн Светлана Симова Доц. д-р Милена Попова Доц. д-р Калина Алипиева Доц. д-р Свилен Симеонов Доц. д-р Даниела Антонова Гл. ас. д-р Боряна Трушева, Гл. ас. д-р Ангел Конакчиев, Маг. Десислава Георгиева Цветинка Стоянова Кристина Георгиева Христо Петков	ПД ДО СТ СТ СТ
Партньорска организация:	
Институт по микробиология „Стефан Ангелов” - БАН	
Участници:	
Чл.-кор. проф. д-р Христо Найденски Гл. ас. д-р Мая Маргаритова Захаријева, Ас. Людмила Людмилова Димитрова Специалист Ива Васиелва Цветкова,	ДО
Партньорска организация:	
Институт по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев” - БАН	
Участници:	
Доц. д-р Милена Георгиева, Проф. д-р Георги Милошев, Гл. асист. д-р Десислава Станева, Маг. Борислава Кукурина Маг. Бела Василева	ДО

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)

В съответствие с работната програма бяха получени девет природни дълбокоекстрактни разтворители (ПДЕР), определена беше тяхната полярност. Те бяха приложени за получаване на екстракти от български прополис, пирински чай (*Sideritis scardica*) и живовляк (*Plantago major*), като бяха намерени най-подходящите условия за екстракция за всеки от обектите – температура, съотношение екстрахиран материал-разтворител, прилагане на ултразвук за улесняване на екстракцията. За оценка на ефективността на екстракцията получените екстракти бяха анализирани по отношение на съдържанието на биоактивни вещества, като бяха сравнявани с класическите водно-алкохолни екстракти.

За получените прополисови екстракти беше определено количеството на тотални феноли, тотални флавоноли и флавоноли. Качественият състав на екстрактите беше детайлно изследван с газова хроматография – мас-спектрометрия и беше потвърдено, че основните компоненти на прополиса, известни с изявеното си фармакологично действие – пиноцембрин, хризин, галангин, фенетилов естер на кафеената киселина – се извличат добре с ПДЕР. Най-добро извличане на комплекса от биоактивните вещества беше постигнато с ПДЕР съдържащ смес от лимонена киселина и пропандиол.

Екстрактите от пирински чай и живовляк бяха анализирани за определяне на съдържанието на тотални феноли и тотални флавоноиди. Тук най-добри резултати бяха получени с ПДЕР със състав холинхлорид – глюкоза, като извлечените биоактивни вещества бяха повече, отколкото се извличат с класическия 70% етанол. Качественото им охарактеризиране предстои на следващия етап на проекта.

Една от целите на проекта е да се сравни биологичната активност на екстрактите с ПДЕР с екстракти, получени с традиционни разтворители, и чисти ПДЕР. За тази цел получените чисти ПДЕР и екстракти с ПДЕР от прополис, живовляк и мурсалски чай бяха изследвани за антимикробен потенциал срещу набор от Грам-(+) , Грам-(-) бактерии и *Candida albicans*, съгласно ISO 20776-1:2006(E). От получените резултати се установи, че всички тествани екстракти с ПДЕР проявяват антимикробна активност срещу повечето от изследваните тест-щамове. Най-силен ефект срещу човешки патогени беше наблюдаван за извлека от пирински чай със смес от лимонена киселина и пропандиол. При сравнение с референтните антибиотици се установи, че той проявява силен бактериостатичен ефект срещу *E. coli* и *S. aureus* в концентрации на феноли по-ниски от тези на гентамицина.

Чисти ПДЕР и екстрактите от прополис, живовляк и мурсалски чай бяха анализирани за генотоксичност. Като модел бяха използвани нормални фибробласти. Изследваните концентрации бяха определени след стандартни тестове за цитотоксичност и бяха обозначени като инхибираща концентрация 50, $\frac{1}{2}$ и $\frac{1}{4}$ инхибираща концентрация (IC50, $\frac{1}{2}$ IC50 и $\frac{1}{4}$ IC50). Всички тествани ПДЕР в чист вид показаха генотоксичност само в IC50 и много слаба до отсъстваща в $\frac{1}{2}$ и $\frac{1}{4}$ IC50. ПДЕР в комбинация с биологичноактивните вещества, извлечени от прополис, живовляк и мурсалски чай, показват правопрпорционална зависимост между използваната концентрация и доказания генотоксичен ефект. Най-силен генотоксичен ефект наблюдавахме при концентрации от IC50. Бяха определени онези концентрации на ПДЕР и екстракти, които не са генотоксични (ПДЕР и биологичноактивни феноли и флавоноиди от изследваните растения в концентрации от $\frac{1}{2}$ и $\frac{1}{4}$ IC50). Те се оказват много подходящи за задълбочени анализи на молекулярно-биолгичния ефект на тяхното действие върху нормални, ракови и стареещи клетки.

Биоактивните екстракти, получените с нетоксични, щадящи околната среда ПДЕР, биха могли да се приложат пряко, без отстраняване на разтворителя, за получаване на хранителни добавки, козметични препарати и други продукти.