

Хабилитационна справка за научните приноси

на гл. ас. д-р Цветелина Емилова Дончева

лаб. Химия на природните вещества
Институт по органична химия с Център по фитохимия
Българска Академия на Науките

За участие в конкурс за "Доцент" по професионално направление 4.2. Химически науки, научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“, обявен в ДВ, бр. 102 от 8.12.2023 г.

София, 2024

Авторската справка за научните приноси се основава на 19 научни публикации (извън дисертационния труд). Публикации [B1-B6] са представени като приравнен еквивалентен брой статии по критерии „B“, а останалите 13 [Г1 - Г13] са представени по критерии „Г“, съобразно изискванията на Закона за Развитие на Академичния Състав на Република България (ЗРАСРБ) и правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и академични длъжности в Института по Органична Химия с Център по Фитохимия, БАН (ИОХЦФ, БАН). Към момента на подаване на документите са забелязани общо 200 цитата (150 от тях по Scopus/WoS), h-индекс 7 (Scopus, без автоцитирания).

Най-общо научната работа, отразена в тези публикации, е в областта на химията на природните вещества. Целта в повечето от тях е да се изясни алкалоидния състав, свързаната с него биологичната активност и възможностите за приложение в съвременната медицинска практика на лечебните растения, биосинтезиращи алкалоиди. Освен това идентифицираните алкалоиди, като характеристични вторични метаболити в растенията са използвани за обогатяване на информацията, свързана с хемотаксономията на видовете от различни географски райони. Само в една от публикациите е изследван тритерпеновият състав на растителния вид *Gentiana cruciata* [Г9], а в публикация [Г11] обект на изследване са земноводни от вида *Triturus ivanbureschi*.

Представените в конкурса научни приноси са резултат от интердисциплинарни изследвания, които могат да бъдат обобщени в следните направления:

1. Изследване на състава, структурата и биологичната активност на вторични метаболити, изолирани от неизследвани до сега, редки и/или ендемични растителни видове и организми.
2. Сравнителен анализ на алкалоидния състав на растения от род *Fumaria*, *Glaucium*, *Coridalis* и *Hypocistis* и извеждане на таксономични и хемотипни зависимости.
3. Определяне на алкалоидния състав на *in vitro* култивирани и *ex vitro* адаптирани ендемични растения.

1. Изследване на състава, структурата и биологичната активност на вторични метаболити, изолирани от неизследвани до сега, редки и/или ендемични растителни видове и организми [B2, B3, Г2, Г5, Г6, Г8, Г9, Г10, Г11, Г12 и Г13].

Растенията са незаменима суровина за нови биологично активни съединения за фармацевтичната промишленост. Много от тях са единственият източник за получаване на важни за лечебната практика вещества, които нямат синтетични заместители.

Алкалоидите от своя страна са важен клас N-съдържащи природни съединения с разнообразна фармакологична и биологична активност. Редица проучвания показват, че именно тези съединения са отговорни за лечебните свойства на някои растения от семейства - Papaveraceae, Berberidaceae, Fumariaceae, Menispermaceae, Rutaceae, Ranunculaceae, Amaryllidaceae и др. До момента от растителни източници са изолирани и идентифицирани над 27 000 алкалоида, като някои от тях, като аналгетика морфин, антималярийния хинин или бронходилататора ефедрин се използват активно в медицината.

Изследванията ми относно състава и структурата на природни вещества са свързани главно с изолиране и структурно охарактеризиране на алкалоиди от растителни видове, принадлежащи към род: *Leptopyrum*, *Hypescoum*, *Papaver*, *Pandanus* и *Thalictrum* [B2, B3, Г5, Г6, Г8 и Г10]. Чрез използване на съвременни хроматографски техники са изолирани **34** индивидуални съединения, от които **23** са открити за първи път в съответните видове, а **3** са новооткрити природни съединения, идентифицирани с помощта на спектрални методи (^1H и ^{13}C NMR, ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC, NOESY, UV, IR и MS). В публикации Г2, Г12 и Г13 са представени обобщени данни за структурата и биологичната активност на алкалоидите, идентифицирани във видовете на род *Hypescoum* и *Leptopyrum*, както и класификация на тропановите алкалоиди от различни растителни източници. В една от публикациите е изследван алкалоидния състав на кожни секрети на земноводни от вида *Triturus ivanbureschi* [Г9], а в публикация [Г11] за първи път е охарактеризиран тритерпеновия състав на растителния вид *Gentiana cruciata* L.

1.1. Изследване на състава и структурата на биологично активни алкалоиди, изолирани от видове на род *Leptopyrum*, *Hypescoum*, *Papaver*, *Pandanus* и *Thalictrum* [B2, B3, Г5, Г6, Г8 и Г10].

Leptopyrum fumarioides L. е единственият представител в род *Leptopyrum*, принадлежащ към семейство Ranunculaceae. Видът е разпространен в североизточните

части на Азия-Сибир, Монголия, Китай и Северна Корея. Надземните части на растението се използват в монголската и тибетската народна медицина за лечение на треска, коремен тиф, повишено кръвно налягане, чернодробни, сърдечно-съдови и стомашно-чревни заболявания. В търсене на нови биологично активни съединения за първи път е изследван алкалоидния състав на вида *L. fumarioides* [B2 и Г8]. Изолирани и охарактеризирани са 4 алкалоида от изохинолинов тип - **протопин, талифолин, лептопирин и лептофумарин**. Последните две са **новооткрити природни съединения**. Алкалоидът лептопирин е първият пример за димерен алкалоид, съдържащ **бензилтетрахидроизохинолинова част, свързана с 3,4-дихидроизохинолин**. Лептофумарин също е димерен алкалоид, изграден от **апорфинова и бензилизохинолинова мономерна единица**. Досега в литературата са идентифицирани единствено апорфин-бензилизохинолинови алкалоиди, притежаващи един етерен мост, докато **в лептофумарин двете части на молекулата са свързани с два етерни моста, като свързването е „глава-глава“ и „опашка-опашка“**. За двете **нови съединения е установено, че имат потенциално противовъзпалително и имуномодулиращо действие [B2]¹**.

Род *Hypocistis* L., принадлежащ към семейство Papaveraceae, е широко разпространен в Средиземноморския регион, Югозападна и Централна Азия. Растенията от рода се използват в тибетската медицина като температуропонижаващо, аналгетично и противовъзпалително средство. Тези ефекти се дължат на биологично и фармакологично активните изохинолинови алкалоиди. Във Флора на България са известни 3 вида *Hypocistis*, измежду които *H. ponticum* е определен като балкански ендемит. **От суровата алкалоидна смес на вида са изолирани и идентифицирани 6 алкалоида от изохинолинов тип, четири от които са четвъртични (хипепонтин, сангвинарин, N-метилканадин и N-метилстилопин), а два третични (протопин и N-метилсекоглауцин) [Г5]. От тях N-метилканадин и N-метилстилопин са установени за първи път във вида, а алкалоида хипепонтин е новооткрито природно съединение**. При *in vitro* изследване на антибактериалната и противогъбична активност на индивидуалните съединения и на суровите алкалоидни смеси, съдържащи третични и четвъртични алкалоиди, **е установено че четвъртичната алкалоидната смес, съдържаща алкалоидите - хипепонтин, N-метилканадин и N-метилстилопин проявява значителна активност и може да бъде използвана в бъдещи**

¹Тестовите за противовъзпалителна, имуномодулираща и антибактериална активност са проведени от колеги в Института по микробиология “Стефан Ангелов“- БАН

фармакологични тестове [Г5]¹. Антибактериалната активност на всички индивидуални съединения е по – ниска в сравнение с активността им в смес, което вероятно се дължи на синергични взаимодействия между идентифицираните алкалоиди.

Papaver degenii (Пирински мак) е многогодишно тревисто растение от семейство Papaveraceae. Пиринският мак е локален ендемит и расте единствено във високопланинския пояс на Пирин планина, между 2100 и 2900 метра надморска височина. Видът е защитен от Закона за биологичното разнообразие и е включен в Червената книга на България. **Чрез използване на различни хроматографски техники за първи път от вида са изолирани 14 алкалоида – два от тях са прости тетрахидроизохинолини (О-метилкорипалин и салсолидин), три са бензилизохинолини (лауданозолин, кодамин и тетрахидроскхоламин), четири са протопини (алокриптопин, протопин, мурамин и криптопин), три са изопавини (О-метилизопавин, амурензин и амурензинин), един алкалоид е от бензофенантридинов тип (хелидонин) а един от морфинанов (О-метилавинантин) [В3].** Всички алкалоиди, изолирани от вида са характерни и за другите видове от род *Papaver*. Този факт, както и фактът, че *P. degenii* е ледников реликтен вид, чието видообразуване е протекло в изключително тежки условия на околната среда, показват неговата относителна генетична стабилност.

Растенията от род *Pandanus* са широко разпространени в тропическите и субтропичните региони, като Югоизточна Азия и Северна Австралия. Използват се в традиционната медицина от векове в различни етнически общества във Виетнам, Тайван, Тайланд и Индонезия като средство за укрепване на черния дроб и инхибиране на туморния растеж и при лечение на ревматизъм, хипергликемия и епилепсия. Съвместно с колеги от Виетнамската академия на науката и технологиите е проведено **фитохимично изследване на видовете *Pandanus amaryllifolius* Roxb. и *Pandanus tectorius* Parkinson с виетнамски произход [Г10].** Изолирани и идентифицирани са **общо 9 алкалоида от панданов тип. Алкалоидите пандамарилактонин В, N-ацетилнорпандамарилактонин А и пандамарилактонин G са открити за първи път във вида *P. tectorius*.** Суровите алкалоидни смеси и алкалоидни фракции от двата вида са оценени за тяхната противовъзпалителна активност с помощта на *in vitro* експериментални модели [Г10]¹. Установено е, че в резултат на синергични

¹Тестовите за противовъзпалителна, имуномодулираща и антибактериална активност са проведени от колеги в Института по микробиология “Стефан Ангелов”- БАН

взаимодействия между алкалоидите, суровите алкалоидни смеси и от двата вида инхибират по-ефективно активирането на макрофагите чрез намаляване на провъзпалителните цитокини TNF- α и IL-6 в сравнение с техните подфракции. В същото време, противовъзпалителния ефект на ConA-индуцираната секреция на IL-10 от макрофаги и лимфоцити се засилва в присъствието на алкалоидна смес от *P. tectorius* и не се повлиява в присъствието на алкалоидна смес от *P. amaryllifolius*. Алкалоидният профил на *P. tectorius* е по-беден от този на *P. amaryllifolius*, което вероятно означава, че някои от компонентите, идентифицирани в *P. amaryllifolius* имат антагонистичен ефект върху действието на трите алкалоида (пандамарилактонин В, N-ацетилнорпандамарилактонин А и пандамарилактонин G) идентифицирани в *P. tectorius*.

От вида *Thalictrum minus* ssp. *majus*. (сем. Ranunculaceae) с български произход е изолиран димерният апорфин-бензилизохинолинов алкалоид таликарпин [Г6]. По литературни данни за този алкалоид е известно, че притежава противотуморно, хипотензивно и антимикробно действие. Със съдействието на колеги от Факултета по Физика и Биологическия факултет към СУ “Св. Климент Охридски“ бяха оценени прооксидантните и антимикробните ефекти на TiO₂ наночастици в комбинация с изолирания таликарпин. **Установено е, че алкалоида и неговата комбинация с TiO₂ наночастици проявяват изразена антиоксидантна активност при рН 8.5, която се губи и се трансформира в добре проявен прооксидантен ефект при рН 7.4. Освен това в резултат на синергични връзки между наночастиците и таликарпин се повишава антибактериалния им ефект.** Получените резултати имат отношение към фармацевтичната индустрия, предвид използването на наночастиците като носители на лекарствени средства в диагностиката и лечението на различни заболявания.

1. 2. Обобщени данни за структурата и биологичната активност на алкалоидите от различни растителни източници [Г2, Г12 и Г13]

Обобщени данни за структурата и биологичната активност на алкалоидите са представени в обзорни работи, публикувани в научни списания и книги (по покана). Те са насочени, съответно към:

1. 2. 1. Структура и биологична активност на алкалоидите, идентифицирани в род *Hurcom* и *Leptopyrum*. Специално внимание е обърнато на

новооткритите природни съединения и възможностите за тяхното бъдещо приложение [Г2 и Г12].

1. 2. 2. Обобщени данни за структурите и класификация на тропановите алкалоидите. Според биосинтетичния път на образуването им, тропановите алкалоиди са класифицирани в четири групи, производни на тропинон, екгонинон, 4-бензилтропанон и пиранотропани [Г13].

1. 3. Изследвания върху състава на кожни секрети на земноводни от вида *Triturus ivanbureschi* [Г11].

Известно е, че земноводните продуцират секрети, съдържащи алкалоиди, с които се предпазват от вредното въздействие на околната среда. Алкалоидите, открити в кожата на земноводните са представени в над 20 структурни класа и имат разнообразна биологична активност. Докато химичният състав на кожните секрети на някои видове, като Огнения саламандър (*Salamanca salamandra*) е сравнително добре проучен, данни за тритоните от рода *Triturus* са до голяма степен ограничени. В тази връзка проби от кожни секрети от 95 екземпляра от вида *Triturus ivanbureschi* бяха събрани от колеги от ИБЕИ-БАН и ни бяха предоставени за изследване на алкалоидното им съдържание [Г11]. **Чрез ГХ-МС анализ беше установено, че пробите не съдържат алкалоиди, а само стеролни съединения, представляващи техни биосинтетични предшественици.** Имайки предвид малките количества на пробите и малкото съществуващи проучвания в тази област, химичният състав на кожните секрети от тритони е тема, нуждаеща се от повече изследвания в бъдеще.

1. 4. Изследвания върху тритерпеновия състав на вида *Gentiana cruciata* L. [Г9]

Gentiana cruciata L. (Синя тинтява) е лечебно растение, използвано в народната медицина като тонизиращо и подобряващо храносмилането средство. Установено е, че екстракта от вида съдържа основно секоиридоидни, ксантонови и флавоноидни гликозиди. Горчивите съставки, принадлежащи към класа на секоиридоидните гликозиди, са типични метаболити за род *Gentiana* и са основните съединения отговорни за лечебното действие на тези растения. В някои видове от род *Gentiana* са идентифицирани и тритерпени от дамаранов, урсанов и олеананов тип, които също имат важни фармакологични приложения. До момента липсват подробни изследвания на тритерпеноидния състав на вида *G. cruciata*. Във връзка с националната научна програма БиоАктивМед е изследван тритерпеновия профил на две проби от *G. cruciata* (търговска и нативна) [Г9]. **Установени са девет пентациклични тритерпеноиди от**

урсанов и олеананов тип, като 3-формил олеанолова киселина е идентифицирана за първи път от природен източник, а 3-формил урсолова киселина и метиловият естер на урсоловата киселина са нови за род *Gentiana*. Двете киселини са охарактеризирани за първи път като силилирани производни чрез GC-MS анализ, което е особено полезно по отношение на тяхното по-нататъшно бързо идентифициране в растителни екстракти.

2. Сравнителен анализ на алкалоидния състав на растения от род *Glaucium*, *Fumaria*, *Coridalis*, *Alkanna* и *Hypocoum* и извеждане на таксономични и хемотипни зависимости [B1, B4, B5, B6, Г1 и Г4].

Алкалоидите като характеристични вторични метаболити за видовете, от които са идентифицирани са използвани за извеждане на хемотаксономични зависимости, както и за проследяване на влиянието на различни екологични фактори върху развитието на растенията.

В изследванията относно алкалоидния състав на растенията от род *Glaucium*, *Fumaria*, *Coridalis*, *Alkanna* и *Hypocoum* са идентифицирани 246 алкалоида, от които 86 са открити за първи път в съответните видове. В зависимост от географското положение на популациите от род *Glaucium* и *Fumaria* е проследено изменението на алкалоидния им състав и са изведени заключения относно съществуващите хемотипове в България [B1, B4, B6]. Резултатите от сравнителният анализ на алкалоидния състав на видовете от род *Coridalis*, *Alkanna* и *Hypocoum* са разгледани от хемотаксономична гледна точка за изясняване на таксономичният статус на някои ендемичните видове у нас, като *C. slivenensis*, *A. primuliflora*, *A. stribrnyi*, *A. graeca* и *H. ponticum* [B5, Г1 и Г4].

Glaucium flavum Crantz. (Жълт мак) е тревисто растение със сиво-зелени листа, растящо в крайбрежни зони, скалисти места или върху силно ерозиран почви, до 500m надморска височина. Видът е важно лечебно растение, съдържащо изохинолинови алкалоиди от различен структурен тип. Продукти на основа апорфиновият алкалоид глауцин, изолиран от вида се използват у нас и други източноевропейски страни в производството на сиропи и препарати против кашлица. Различни изследвания са показали, че съставът на алкалоидите, идентифицирани във вида е силно изменчив в зависимост от районите на разпространение на растението. Такива данни, обаче липсват за вида *G. flavum*, разпространен в България, въпреки че са особено необходими, предвид използването му като източник на глауцин.

Общо девет алкалоида са идентифицирани във вида *G. flavum*, събран от четири различни природни популации [B6]. **Според алкалоидното съдържание в четирите**

популации на вида *G. flavum* е установено, че в България са разпространени три хемотипа. Първият съдържа апорфинови и протопинови алкалоиди, с основен алкалоид глауцин. Вторият хемотип съдържа отново апорфинови и протопинови алкалоиди, но основният алкалоид е изокоридин, а третият хемотип съдържа освен предходните две групи алкалоиди и морфинанановия алкалоид салутаридин. Трябва да се отбележи, че две от популациите имат подобен алкалоиден профил и попадат в една хемотипна група, въпреки че едната се намира в крайбрежната зона, а другата във вътрешността на страната. Предполагаме, че в случая образуването на хемотип не зависи само от географското местоположение и факторите на околната среда, но и от генетичните особености на вида.

Съвместно с колеги от университета в М'Сила, Алжир е проведен сравнителен анализ на алкалоидния състав на вида *Glaucium corniculatum* от български и алжирски произход, при което са установени общо 17 алкалоида от протопинов, апорфинов, бензофенантридинов, протоберберинов, бензилизохинолинов и спиробензилизохинолинов тип [B4]. Сравнителният анализ на алкалоидните профили, показва че растенията с български произход продуцират бензофенатридинови алкалоиди (хелеритрин и сангвинарин), подобно на растенията, разпространени в други райони с умереноконтинентален климат. В пробите от Алжир, където климатът е тропичен, този тип алкалоиди не беше установен. Това предполага, че биосинтезът на бензофенатридините е силно повлиян от географския регион, в който се развива растението, и може да се използват като маркери за подпомагане идентифицирането на произхода на растителния материал.

Растенията от род *Fumaria* са разпространени по целия свят и най-широко в средиземноморския регион. В традиционната медицина се използват за лечение на стомашно-чревни нарушения, ревматизъм, треска, някои кожни заболявания, сифилис и проказа. Биологичната им активност в повечето случаи е свързана с наличието на изохинолинови алкалоиди. В публикация [B1] чрез GC-MS анализ е изследван алкалоидният състав на четири вида от род *Fumaria* (*F. kralikii*, *F. rostellata*, *F. schleicherii* и *F. thuretii*), растящи в България. Идентифицирани са общо 20 изохинолинови алкалоиди, като много от тях са идентифицирани за първи път в съответните видове. Основният алкалоид в повечето от анализирани проби е протопин в количество от 23% до 43%. Според литературните данни, до момента, видовете от род *Fumaria* принадлежат към три хемотипа, формирани в зависимост от съдържанието на основните алкалоиди. В проведеното от нас сравнително изследване,

растения от един и същи вид като *F. kralikii*, растящи при различни условия (местообитания, надморска височина), биосинтезират едни и същи основни алкалоиди. Имайки предвид това, установихме че разглеждането на структурния тип на изохинолиновите алкалоиди, може да бъдат по-полезно по отношение на извеждане на хемотипни заключения, отколкото използването на основните алкалоиди. В съответствие с това в род *Fumaria* предложихме формирането на две нови хемотипни групи. Група А, съдържаща видовете *F. kralikii*, *F. rostellata* и *F. thuretii* и продуцираща най-голямо количество спиробензилизохинолини (>50% от алкалоидните смеси) и група В, съдържаща видовете *F. rostellata* и *F. schleicherii* с най-голямо количество протопинови алкалоиди (>40% от алкалоидните смеси) и относително висок процент фталидеизохинолинови алкалоиди (11-19%).

Род *Corydalis* е представен от 540 вида растения и принадлежи към семейство макови (Papaveraceae). В българската флора са установени само четири от тях: *C. bulbosa*, *C. marschalliana*, *C. slivenensis* и *C. solida*. *C. slivenensis* е българският ендемит с все още не напълно изяснен таксономичен статус и считан от някои автори за разновидност или подвид на *C. solida*. В изследванията ни относно алкалоидният състав на *C. slivenensis* и *C. solida* са идентифицирани общо 21 алкалоида от изохинолинов тип (19 алкалоида от *C. slivenensis* и 8 алкалоида от *C. solida*) [B5]. Установено е, че растенията от вида *C. slivenensis* имат по-сложен алкалоиден профил, поради наличието на голям брой апорфинови и протоберберинови алкалоиди. Освен това бензилизохинолиновите алкалоиди папаверин и N-метиллауротетанин са идентифицирани единствено в *C. solida*, а бензофенантридиновият алкалоид сангвинарин в *C. slivenensis*. Получените резултати имат значение от хемотаксономична гледна точка и биха допринесли за изясняване таксономичният статус на видовете в рода.

Родът *Alkanna* принадлежи към семейство Boraginaceae, подсемейство *Boraginoidae*. Видовете *Alkanna* са разпространени в южната част на Балканския полуостров, в Средиземноморския регион и в субтропичните райони на света и са представени от голям брой местни и регионални ендемити. Във Флора на България са описани шест вида, като три от тях са балкански ендемити: *Alkanna primuliflora* Griseb., *A. stribrnyi* Velen. и *A. graeca* Boiss. & Spruner, а два български: *A. stojanovii* Kožuharov и *A. jordanovii* Kožuharov. Съвместно с колеги от Аграрния университет в Пловдив и ИБЕИ-БАН е проучена репродуктивната способност и алкалоидния състав на балканските ендемити *A. primuliflora*, *A. stribrnyi* и *A. graeca* с български произход,

които са със силно ограничено разпространение и са включени в Европейската екологична мрежа ЕС НАТУРА 2000 [Г1]. Чрез GC-MS анализ на суровите алкалоидни смеси са идентифицирани **осем пиролизидинови алкалоиди: 7-ангелоилретронецин, 9-ангелоилретронецин, 7-тиглоилретронецин, 9-тиглоилретронецин, триангуларин, триангуларицин, дихидрокситриангуларин и дихидрокситриангуларицин.** Основният алкалоид във всички изследвани растения е триангуларин. Установено е, че и трите вида имат подобни алкалоидни профили, като разликите в алкалоидното съдържание се отнасят главно до отсъствието или присъствието на някои минорни компоненти. Освен това са наблюдавани минимални разлики в алкалоидните профили на растенията от различни природни популации и в различни фази на развитие, което доказва че **околната среда и онтогенезата не влияят съществено върху биосинтеза на алкалоиди.** Резултатите от проучването имат значение за познаването на ендемичните видове с ограничено разпространение у нас и ще улеснят възможностите за тяхното опазване.

При сравнително изследване на алкалоиден състав на някои видове *Hypocistis* (*H. procumbens* L., *H. ponticum* Velen и *H. imberbe* Sm.) са идентифицирани 10 изохинолинови алкалоиди: третични – протопин, N-метилсекоглауцин, стилопин, дихидропротопин, N-метилкоклаурин и дихидрохелирубин и четвъртични-сангвинарин, N-метилстилопин, N-метилканадин и хипепонтин [Г4]. **Установено е, че *H. ponticum*, за който някои автори считат, че е синоним на *H. procumbens*, е добре отделен от останалите видове *H. procumbens* и *H. imberbe* поради наличието на голям брой четвъртични изохинолинови алкалоиди.**

3. Алкалоиден състав на *in vitro* култивирани и *ex vitro* адаптирани ендемични растения [Г3 и Г7].

Ендемичният *Papaver degenii* (Urum. & Jav.) Kuzmanov се среща на много ограничени места във алпийската зона на Пирин планина. Поради затруднено репродукциране и късия вегетационен сезон, възпрепятстващ узряването на семената, видът е с ограничено разпространение. Това налага предприемане на мерки за неговото запазване чрез някои *in situ* и *ex situ* консервационни действия. В сътрудничество с колеги от ИБЕИ-БАН, са отгледани *in vitro* култури чрез соматична ембриогенеза с добавки на различни елиситори, както и *in vitro* култури от семена, които впоследствие са *ex vitro* адаптирани и аклиматизирани в естествени условия [Г3 и Г7]. **Установено е значително повишаване на алкалоидното съдържание (5 до 6 пъти) в *in vitro* култивираните и *ex vitro* адаптираните растения (надземни части и корени) в**

сравнение с диворастващите. Тази разлика може да бъде свързана с това, че култивирането на растения в лабораторни условия може да предизвика стрес и да доведе до повишени нива на произведените алкалоиди.

От регенерираните растения са изолирани четири изохинолинови алкалоида амурензин, О-метилтализопавин, алокриптопин и протопин. **Основният алкалоид във всички анализирани проби е алкалоида амурензин, представляващ 63,4% от суровата алкалоидна смес в *in vitro* културите и 88,1% в надземните части на *ex vitro* адаптираните растения [Г3].** Установено е, че добавянето на елиситори (метилжасмонова киселина) в хранителната средата при индуцираната индиректна соматична ембриогенеза влияе положително върху съдържанието на алкалоиди, но не предизвиква значителни промени в състава [Г7].

Получените резултати са добър пример за успешно прилагане на биотехнологични методи за опазване на редки и застрашени видове. Освен това *ex vitro* адаптираните растения от вида *P. degenii* могат да бъдат използвани като източник на алкалоида амурензин, с приложение при лечение на неврологични заболявания, като болестите на Паркинсон и Алцхаймер.

Насоки за бъдеща научно-изследователска работа:

През следващите три години предвиждам:

- Продължаване на изследванията върху лечебни, ендемични и неизследвани до сега растения, целящи откриване на нови биологично активни съединения (алкалоиди) и търсене на възможна връзка структура-биологична активност;
- Изследвания, свързани с проследяване влиянието на различни екологични фактори върху съдържанието на алкалоиди в растенията;
- Разработване на методи за получаване на биологично активни вещества от лечебни растения чрез използване на съвременни екстракционни техники;
- Продължаване на сътрудничествата, както с българската научна общност (ИБЕИ-БАН, ИМ “Стефан Ангелов“ - БАН, Аграрен университет и др.), така и с международната с МАН, ВАНТ и др.;
- Търсене на възможности за кандидатстване по национални и международни програми за финансиране на научните изследвания.

Библиография

- [B1] **Doncheva, T.**, Yordanova, G., Vutov, V., Kostova, N., Philipov, S. Comparative study of alkaloid pattern of four Bulgarian *Fumaria* species. *Nat. Prod. Commun.* **2016**, 11(2), 211-212.
- [B2] Solongo, A., **Doncheva, T.**, Kostova, N., Gerelt-Od, Y., Philipov, S., Ivanovska, N. Alkaloids from the aerial parts of *Leptopyrum fumarioides* express immunomodulatory activity. *J. As. Nat. Prod. Res.* **2019**, 22, 886-894.
- [B3] **Doncheva, T.**, Kostova, N., Antonova, A., Tashev, A., Philipov, S. Alkaloids from *Papaver degenii* (Urum. et Jav.) Kuzmanov. *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* **2014**, 67, 339-342.
- [B4] **Doncheva, T.**, Kostova, N., Yordanova, G., Saadi, H., Akrib, F., Dimitrov, D., Philipov, S. Comparison of alkaloid profile from *Glaucium corniculatum* (Papaveraceae) of Algerian and Bulgarian origin *Biochem. Syst. Ecol.* **2014**, 56, 278-280.
- [B5] **Doncheva, T.**, Yordanova, G., Vutov, V., Kostova, N., Philipov, S. Comparative study of alkaloid profile of *Corydalis slivenensis* Vel. and *Corydalis solida* L. *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* **2015**, 68, 843-846.
- [B6] **Doncheva, T.**, Doycheva, I., Philipov, S. Alkaloid chemotypes of *Glaucium flavum* (Papaveraceae) from Bulgaria. *Biochem. Syst. Ecol.* **2016**, 68,1-5.
- [Г1] Semerdjieva, I., Petrova, G., Yankova-Tsvetkova, E., **Doncheva, T.**, Kostova, N., Nikolova, R., Zheljazkov, V. Genetic diversity, reproductive capacity and alkaloids content in three endemic *Alkanna* species. *PLoS ONE*, **2020**, 15(6): e0233516.
- [Г2] Kostova, N., **Doncheva, T.** *Hypecoum* spp.- Chemistry and Biological Activity of Alkaloids. *Diversity*, **2023**, 15(9), 1023.
- [Г3] **Doncheva, T.**, Stanilova, M., Vutov, V., Philipov, S. Alkaloids of Seeds, *in vitro* Cultivated and *ex vitro* Adapted Plants of the Bulgarian Endemic Species *Papaver degenii* (Papaveraceae). *Nat. Prod. Commun.* **2017**, 12, 359-361.
- [Г4] **Doncheva, T.**, Kostova, N., Vutov, V., Aneva, I., Philipov, S. Comparative study of the alkaloid composition in some Bulgarian species of genus *Hypecoum*. *Comp. Rend. Bulg. Scien.* **2019**, 72, 727-731.
- [Г5] **Doncheva, T.**, Kostova, N., Valcheva, V., Toshkovska, R., Vutov, V., Philipov, S. Hypepontine, a new quaternary alkaloid with antimicrobial properties. *Nat.Prod.Res.* **2020**, 34, 668-674.
- [Г6] Pavlova, E., Toshkovska, R., **Doncheva, T.**, Ivanova, I. Prooxidant and antimicrobial effects of iron and titanium oxide nanoparticles and thalicarpine. *Arch. Micr.* **2020**, 22, 1873-1880.
- [Г7] Doycheva, I., **Doncheva, T.**, Philipov, S. Indirect somatic embryogenesis induction of *Papaver degenii* and influence of gelling agents and elicitors. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* **2022**, 58, 716-727.
- [Г8] **Doncheva, T.**, Solongo, A., Kostova, N., Gerelt-Od, Y., Selenge, D., Philipov, S. Leptopyrine, new alkaloid from *Leptopyrum fumarioides* L. (Ranunculaceae). *Nat.Prod.Res.* **2015**, 29(9), 853-856.
- [Г9] Kostova, N., **Doncheva, T.**, Alipieva, K., Popova, M. Triterpenes in *Gentiana cruciata* L. *Comp. Rend. Bulg. Scien.* **2021**, 74, 207-211.

- [Г10] **Doncheva, T.**, Kostova, N., Toshkovska, R., Philipov, S., Vu, N., Nguyen, D., Nguyen, T., Do, G., Dang, H. Alkaloids from *Pandanus amaryllifolius* and *Pandanus tectorius* from Vietnam and Their Anti-inflammatory Properties. *Comp. Rend. Bulg. Scien.* **2022**, 75, 812-820.
- [Г11] Lukanov, S., **Doncheva, T.**, Kostova, N., Naumov, B. Effects of selected environmental parameters on the activity and body condition of the Buresch's crested newt (*Triturus ivanbureschi*) with notes on skin secretions. *North-Western Journal of Zoology*, **2021**, 17, 34-38.
- [Г12] Solongo, A., **Doncheva, T.**, Delgerbat, B., Selenge D. Review of phytochemical and some biological activity of *Leptopyrum fumarioides* (L.) Reichenb. *Proc. Univers. Appl. Chem. Biotech.*, **2022**, 12, 231-237.
- [Г13] Philipov, S., **Doncheva, T.** Alkaloids derived from ornithine: Tropane alkaloids. In: Natural Products, Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes, K.G. Ramawat, J.M. Merillon (eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Vol. 1, 343-358, **2013**. ISBN: 978-3-642-22143-9.