

ГЛ. АСИСТЕНТ Д-Р АНТОН ВЕСЕЛИНОВ ХИНКОВ
ЛАБОРАТОРИЯ „ВИРУСОЛОГИЯ“
БИОЛОГИЧЕСКИ ФАКУЛТЕТ, СУ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

**АБСТРАКТИ НА СТАТИИТЕ, ПРЕДСТАВЕНИ ЗА УЧАСТИЕ В КОНКУРСА ЗА
ЗАЕМАНЕ НА АКАДЕМИЧНАТА ДЛЪЖНОСТ „ДОЦЕНТ“**

1. Бенедети Ф., Ф. Берти, С. Будал, П. Кампанер, Ф. Динон, А. Тоси, Р. Аргирова, П. Генова, В. Атанасов, А. Хинков, (2012): Синтез и биологична активност на HIV-1 протеазни инхибитори на базата на Phe-Pro дихидроксиетиленови изостери. *J. Med. Chem.* 2012, 55, стр. 3900–3910 DOI: 10.1021/jm3001136 **IF₂₀₁₂=5.614, SJR₂₀₁₂=2.343; Q1**

Резюме: Пептидомиметиците инхибиращи протеазата на HIV-1 са потенциален източник на молекули използвани в борбата срещу СПИН. В настоящата публикация са описани синтезът и биологичната активност на инхибитори на протеазата на HIV-1 на базата на четири нови дихидроксиетиленови изостери на Phe-Pro и Pro-Pro дипептиди. Изостерите, съдържащи четири стереогенни центъра, бяха синтезирани с висок добив и отлична стереоселективност чрез циклизиране на епоксидни амини, получени от α -аминокиселини. Инхибиторите бяха събрани чрез свързване на изостерите с подходящи странични групи и бяха изследвани срещу рекомбинантна протеазата на HIV-1. Два инхибитора на основата на Phe-Pro изостер бяха допълнително изследвани. И двата инхибитора комбинират способността за потискане на репликацията на HIV-1 в инфектирани MT-2 клетки с ниска цитотоксичност срещу същите клетки, като по този начин показва висок терапевтичен индекс. Тези резултати показват, че Phe-Pro дихидроксиетиленовият изостер може да бъде използван за синтеза на инхибитори на протеазата на HIV-1.

2. Станкова, И., К. Станоева, А. Хинков, И. Алексиев, П. Генова-Калу, Р. Чайров, Р. Аргирова. 2012. Аминокиселинни и пептидни естери на абакавир: синтез и активност срещу вирусът на човешкия имунодефицитен тип 1 в клетъчна култура. *Medicinal Chemistry Research*, 21, 4053-4059. DOI: 10.1007/s00044-011-9956-y **IF₂₀₁₂= 1.612, SJR₂₀₁₂= 0.375; Q3**

Резюме: При терапия включваща медикаментът Абакавир (ABC) се наблюдават странични реакции като свръхчувствителност, риск от сърдечно-съдови заболявания, и др. Един възможен начин за минимизиране на страничните ефекти е чрез модифициране на химическа структура. Три естера на ABC, съдържащи аминокиселина глицин (Gly) и дипептидни естери (глицил-глицин) бяха синтезирани и тяхната активност спрямо репликацията на HIV-1 III В в MT-4 клетките бяха оценени. Единият от новосинтезираните естери – Gly-ABC показва при експериментите ниска цитотоксичност и висока анти-HIV-1 активност в MT-4 клетки, както и ниска митохондриална токсичност и висока генетична бариера за резистентност.

3. Моянкова Д., А. Хинков, Д. Георгиева, С. Шишков, Д. Джилянов. 2014. Инхибиторен ефект на екстракти от *Haberlea Rhodopensis* Friv. срещу вирус херпес симплекс. *Доклади*

на Българската академия на науките (Comptes rendus de l'Acad'emie bulgare des Sciences). 2014, 63(10), p. 1369-1376 IF₂₀₁₄=0.284; SJR₂₀₁₄=0.205; Q3

Резюме: *Haberlea rhodopensis* Friv. (Gesneriaceae) е рядък вид, ендемичен за Балканите. Принадлежи към групата на т. нар. възкръсващи растения, способни да издържат продължителни периоди, в които са напълно изсъхнали. Тествахме активността на тотални метанол, етанол и водни екстракти от пресни и изсушени на въздух листа на *H. Rhodopensis* Friv., както и аполярни и полярни фракции на метанолови екстракти срещу HSV-1 и 2. Цитотоксичността (максимална нетоксична концентрация и цитотоксична концентрация 50) беше определена спрямо клетъчна линия MDBK (Madin-Darby Bovine Kidney) чрез колориметричен МТТ тест. Инхибиращият потенциал беше определян чрез модифицирани МТТ тест за определяне на вещества с анти-HSV активност също в MDBK клетки. Тоталният метанолов екстракт от сухи листа (MeDry) показва най-висока активност – 61% за HSV-1(F) и 60% за HSV-2(BA). При тестът проследяващ въздействието на растителните екстракти върху инфекциозността на извънклетъчните вириони не беше установена промяна в титъра на третирания вирус спрямо този на контролния. Полярни и неполярни фракции на метаноловия екстракт от сухи листа показват пониска антивирусна активност в сравнение с общия екстракт. Би могло да се каже, че комплексът от всички съединения в тоталният метанолов екстракт от *H. Rhodopensis* Friv. притежава уникален синергичен инхибитор ефект срещу човешкият херпесен вирус. Изследваното растение би могло да се разглежда като източник на биоактивни вещества с антивирусен ефект.

4. Тодоров, Д., А. Хинков, К. Шишкова, С. Шишков. 2014. Антивирусен потенциал на български лечебни растения. *Phytochem. Rev.*, 13 (2): 525-538. DOI: 10.1007/s11101-014-9357-1, IF₂₀₁₄=2.894, SJR₂₀₁₄=0.923; Q1

Резюме: Лечебните растения се използват широко за лечение на различни инфекциозни и неинфекциозни заболявания. Българската флора включва 4300 вида растения, над 500 от които са редки или ендемични за страната или Балканския регион. Целта на настоящата работа е изчерпателно да обобщи изследванията върху антивирусната активност на българските лечебни растения от последните три десетилетия. Ефектът на различни екстракти, получени от *in vitro* размножени растения, също е изследван. Фитохимичният състав и неговото влияние върху специфични етапи от жизнения цикъл на вируса са обсъдени в тази статия. Прегледът включва следните семейства: *Amaryllidaceae*, *Fabaceae*, *Geraniaceae*, *Lamiaceae*, *Onagraceae*, *Ranunculaceae*, *Rosaceae*, *Crophulariaceae* и *Rhodophyta*. Специално внимание е отделено на вирусите като важни човешки патогени.

5. Захманов, Г., К. Алипиева, П. Денев, Д. Тодоров, А. Хинков, С. Шишков, М. И. Георгиев, 2015. Охарактеризиране на флавоноидни гликозиди в плодовете на бъза (*Sambucus ebulus* L.) и оценка на техните антиоксидантни и анти-херпес симплекс вирус активности. *Industrial Crops and Products*. 2015, 63, p. 58-64 DOI:10.1016/j.indcrop.2014.10.053 IF₂₀₁₅=3.449, SJR₂₀₁₅=1.049; Q1

Резюме: Бъзакът (*Sambucus ebulus* L.) е популярно лечебно растение, използвано от векове в народната медицина на Балканския полуостров. Екстрактите от *S. ebulus* показват противовъзпалителни, антинеопластични и антимикробни свойства,

стимулират заздравяването на рани и имат антиоксидантни и анти-улцерогенни действия. В настоящата публикация представяме разработена от нас схема за изолиране на отделни съединения, използвайки различни хроматографски техники. Изясняването на структурата им беше извършвано с помощта на 1D и 2D NMR. Бяха идентифицирани пет флавоноидни гликозида – кверцетин-3-О-ламинарибиозид [1], изорамнетин-3-О-ламинарибиозид [2], кверцетин-3-О-рутинозид [3], изорамнетин-3-О-рутинозид [4], изорамнетин-3-О- глюкозид [5]. Съединения 1 и 2 са установени за първи път в растения от род *Sambucus*. Няколко тритерпени - урсолова, олеанолова и маслинова киселина - бяха условно идентифицирани чрез GC-MS хроматографски метод. Установените анти херпес симплекс тип 1 и антиоксидантна (в ORAC_{FL} и HORAC_{FL}) активности предполага, че плодовете от бязак могат да служат като източник на ценни молекули за различни цели.

6. Тодоров, Д., К. Шишкова, Д. Драголова, А. Хинков, В. Капчина-Тотева, С. Шишков. 2015. Антивирусна активност на лечебното растение *Nepeta nuda*. *Biotechnol. Biotechnol. Equipment*, 29 (Suppl. 1): 39-S43. DOI:10.1080/13102818.2015.1047215. IF₂₀₁₅=0.379, SJR₂₀₁₅=0.173; Q4.

Резюме: *Nepeta nuda subsp. nuda* L. е медицинско растение, известно с различните си лечебни си свойства. В публикацията са представени резултатите от експериментите изследващи антивирусната активност на четири извлека, получени чрез екстракция с метанол и хлороформ на растения култивирани *in vivo* и *in vitro*. При определяне на токсичността беше използвана клетъчна линия Madin_Darby bovine kidney (MDBK). Беше определена максимално поносимата концентрация (МТС) и цитотоксична концентрация (CC₅₀) и на четирите екстракта. Беше изследвана активността на екстрактите спрямо репликацията на вирус Herpes simplex тип1 (HSV-1) и тип 2 (HSV-2) в клетъчна линия MDBK. Беше определена инхибиторна концентрация 50% (IC₅₀) и селективният индекс (SI) на екстрактите срещу двата вирусни типа. Метаноловият екстракт, получен от нативното растение, показва най-висока активност. Стойностите за IC₅₀ за двата вирусни типа са близки - 320 mg/ml спрямо HSV-1 (SI=4,94) и 510 mg/ml спрямо HSV-2 (SI=3,1). Приложен в МТС, екстрактът инхибира вирусната репликация с повече от 95% както при HSV-1, така и при HSV-2. Вирусоцидният ефект бе изследван чрез определяне на титъра на третираните извънклетъчните инфекциозни вириони. И четирите екстракта от *N. nuda* инактивират извънклетъчната форма на HSV-2. Най-силно инактивиращо действие показва хлороформният екстракт от нативното растение (повече от 99% вирусна инактивация). Екстрактите слабо повлияват навлизането на вируса в клетката гостоприемник като най активен при този тест отново беше хлороформният екстракт (повече от 90%).

7. Тодоров, Д., Д. Павлова, А. Хинков, К. Шишкова, Д. Драголова, В. Капчина-Тотева, С. Шишков. 2015. Ефект на *Teucrium chamaedrys* L. спрямо херпес симплекс вирус тип 2. *Compt. rend. Acad. bulg. Sci.*, 68 (12): 1519-1526. IF₂₀₁₅= 0.233, SJR₂₀₁₅=0.205; Q3.

Резюме: *Teucrium chamaedrys* L. (Wall germander) е широко разпространен вид *Teucrium* (*Lamiaceae*), срещащ се в естествената флора на България, както и в някои страни от Централна и Южна Европа. Това е лечебно растение с традиционна употреба в България и в други балкански страни за билкови чайове и основни медицински лечения. В нашето *in vitro* изследване хлороформен и метанолов екстракти, получени чрез екстракция по Сокслет, както и метанолов екстракти, получен чрез екстракция чрез термостат, бяха тествани за антивирусна активност.

Два от изследваните екстракти инхибират репликацията на Херпес симплекс вирус тип 2 (HSV-2) в MDBK клетки значително без видима цитотоксичност. 50% ефективна концентрация (EC₅₀) на хлороформния екстракт е 350 µg/ml. Репликацията на вируса е потисната над 82% от екстракта, приложен в максимално допустима концентрация (МТС). Метаноловият термостатен екстракт показва слаб антивирусен ефект (EC₅₀ = 680 µg/ml). Екстрактите, приложени в МТС, инактивират извънклетъчния вирус, вирусната адсорбция и навлизането на HSV-2. За първи път се наблюдава антихерпесна активност на сурови екстракти от *Teucrium chamaedrys*.

8. Ангелова, П., А. Хинков, В. Цветков, Д. Тодоров, К. Шишкова, Д. Драголова, С. Шишков, В. Капчина-Тотева. 2018. Анти-херпесвирусна активност на екстракти от *Artemisia chamaemelifolia* Vill. *Compt. rend. Acad. bulg. Sci.*, Vol 72, No11, pp.1475-1483. **IF₂₀₁₈=0.251; SJR₂₀₁₈=0.21; Q2.**

Резюме: Human alphaherpesvirus (HHV) тип 2 е инфекциозен агент причиняващ генитален херпес. В публикацията са представени резултатите от изследването на ефекта на воден и хлороформен соксклетни екстракти, получени от надземните части на растението *Artemisia chamaemelifolia* Vill. (*Asteraceae*), спрямо репликацията на HHV тип 2 щам ВА (чувствителен към Acyclovir) и щам DD (резистентен на Acyclovir). При антивирусните тестове водният екстракт постига ~ 70% протекция на клетъчният монослой (и за двата използвани щамове) съгласно модифицираният МТТ тест и инхибира производството на инфекциозно вирусно потомство ~ 80% за щам ВА и ~ 70% за щам DD. Ефектът е дозозависим. Водният екстракт проявява слаба вирусцидна активност приложен в максимална нетоксична концентрация. Хлороформеният соксклет екстракт не повлиява репликацията на двата използвани щамове, както и инфекциозността на извънклетъчните вириони.

9. Хинков А., Ангелова П., Марчев А., Ходжев Ю., Цветков В., Драголова Д, Тодоров Д, Шишкова К., Капчина-Тотева В., Блъндел Р., Шишков С., Георгиев. М., 2020. Воден екстракт от *Nepeta nuda* ssp. *nuda* L.: инхибиране на репликацията на някои щамове на човешкия алфа херпесен вирус (род Simplex вирус) *in vitro*, начин на действие и базирана на ЯМР метаболомика, *Journal of Herbal Medicine* (2020), doi: <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2020.100334>. **IF₂₀₂₀=1.554, SJR₂₀₂₀=0.483; Q2.**

Резюме: *Nepeta nuda* L. се използва в традиционната народна медицина заради своите диуретични, антиастматични, антиоксидантни, спазмолитични, седативни и аналгетични свойства (приписвани на непеталактоните). В настоящото изследване водният екстракт от *Nepeta nuda* ssp. *nuda* L. беше тестван, за да се проучи ефектът му върху репликацията на човешки алфа херпесен вирус (HHV) тип 1, щам F (ACV-чувствителен) и тип 2, щам DD (ACV-резистентен) *in vitro*. Токсичността се измерва на 48 h (CC₅₀ = 7,35 mg/ml±0,06) и 72 h (CC₅₀ = 4,488 mg/ml±0,308) след инфекцията. Екстрактът показва мощна антихерпесвирусна активност и при двата проведени антивирусни теста (базиран на МТТ колориметричен анализ и анализ за намаляване на добива). По времето, когато екстрактът беше добавен, бяха приложени две експериментални подредби. Антивирусната активност се увеличава, когато водният екстракт се добавя едновременно с инокулацията на клетъчния монослой (EC₅₀ от 0,66 mg/ml±0,04 и 0,788 mg/ml±0,009 съответно за щамове F и DD, измерени чрез колориметричен анализ). Стойността на IC₅₀ е 0,181 mg/ml±0,073 и 0,0888

mg/ml±0,014 съответно за щамовете F и DD, измерени чрез анализ за намаляване на добива. За съжаление, селективността за вирусни спрямо клетъчни молекулярни мишени (SI) беше ниска, с изключение на стойностите на SI (40,60 и 82,77 съответно за щамовете F и DD), получени чрез анализа за намаляване на добива, когато водният екстракт беше добавен едновременно с инокулацията на клетъчен монослой. И при двата вида антивирусни анализи водният екстракт запазва активността срещу ACV-резистентния DD щам. Вируцидният анализ показва, че водният екстракт не намалява инфекциозността на нито един от щамовете, използвани в концентрация, равна на максималната нетоксична концентрация. Следователно, гореспоменатото повишаване на антивирусната активност, открито в експериментални условия, когато екстрактът е добавен веднага след инокулацията, не се дължи на директно инактивиране на извънклетъчните вириони. По-скоро се дължи на въздействие на адсорбцията, но не и на проникването (според резултатите от проведения експеримент). Тестът за времето на добавяне показва, че водният екстракт продължава да проявява антивирусна активност дори когато се добави 10 часа след инфекцията. Всички тези наблюдения предполагат, че водният екстракт проявява своята антихерпесвирусна активност чрез повлияване както на ранните (адсорбция), така и на късните събития на репликацията на HHV. Метаболомните изследвания на екстракта показват, че основните фенолни киселини, присъстващи в екстракта, включват розмаринова, хлорогенна, галова, ванилова, кафеена, протокатехуинова, ферулинова и канелена киселини; докато наличието на флавоноиди се свързва с цирсимаритин, хризоеериол, ванилин, рутин и кверцетин.

10. Чучков К., Р. Чайров, А. Хинков, Д. Тодоров, К. Шишкова, И. Г. Станкова. 2020. Модификации на хетероциклената база на ганцикловир, пенцикловир и ацикловир - синтеза и антивирусни свойства, *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 39:7, 979-990. DOI: 10.1080/15257770.2020.1725043 **IF₂₀₂₀=1.381, SJR₂₀₂₀=0.27; Q3.**

Резюме: Генерирани са естери на антихерпесните лекарства ганцикловир и пенцикловир с жлъчни киселини (холева, хенодеоксихолева и дезоксихолева) и аминокиселинни естери на ацикловир, като е определена тяхната *in vitro* антивирусна активност срещу вируси на херпес симплекс тип 1 и тип 2 (HSV-1, HSV-2). Антивирусните анализи показват, че модифицираните аналози на ACV и PCV са по-малко активни в сравнение с генеричните вещества срещу HSV-1 и HSV-2. CC_{50} за ганцикловир-дезоксихолат съответства на CC_{50} на другите аналози и неговата активност е по-ниска от ганцикловир. Получените резултати показват, че тестваната модификация не подобрява бионаличността на нуклеозидните аналози в клетките.

11. Тодоров, С. Д., В. К. Кавикиоли, М. Ананиева, В. П. Биволарски, Т. А. Василева, А. В. Хинков, Д.Г. Тодоров, С. Шишков, Т. ф. Хартле, И. Н. Илиев, Л. А. Неро, И. В. Иванова, (2020). Експресия на коагулин А с ниска цитотоксична активност от *Pediococcus pentosaceus* ST65ACC, изолиран от сирене получено от сурово мляко. *Journal of applied microbiology*, 128(2), 458-472. DOI 10.1111/jam.14492 **IF₂₀₂₀=3.066, SJR₂₀₂₀=0.889; Q2**

Резюме: Цели: Имахме за цел да оценим някои специфични условия за растеж на *Pediococcus pentosaceus* ST65ACC и експресията на бактериоцин(и) чрез ABC транспортери; пречистването на бактериоцина(ите) и определяне на неговата

(тяхната) последователност; определяне на цитотоксичността на пречистения(те) бактериоцин(и).

Методи и резултати: Представените резултати за култивирането на *P. pentosaceus* ST65ACC показват, че бактериалният растеж е слабо повлиян при култивиране в MRS бульон с различни количества инокулум: 1, 2, 5 и 10%. Активността на бактериоцините се повишава, когато се използват 5 и 10% инокулум. Източникът на въглерод (глюкоза), използван в различни количества (1, 2, 3 или 4%), няма значителен ефект върху растежа и производството на бактериоцин. Изследваният щам *P. pentosaceus* ST65ACC е в състояние да метаболизира ксилоолигозахариди (XOS) като единствен източник на въглерод като това води до производството на антимикробен пептид. Гените, участващи в ABC транспортната система и метаболизма на захари на *P. pentosaceus* ST65ACC, се експресират на различни нива. Бактериоцините, произведени от *P. pentosaceus* ST65ACC, беше частично пречистен чрез утаяване с амониев сулфат (при 40% насищане), последвано от обратно-фазова течна хроматография, което позволи идентифицирането на активния бактериоцин. Използвана е тандемна маспектрометрия за идентифициране на частичната последователност KYYGNGVTTCGKHSCSVDWVGK, имаща голямо сходство с коагулин А. Полупречистеният бактериоцин има ниска цитотоксичност въз основа на изчислените стойности за максимална нетоксична концентрация (МНК) и цитотоксична концентрация (ЦК₅₀).

Заключения: Бактериоцините, продуцирани от *P. pentosaceus* ST65ACC, е сходен с коагулина, има ниска цитотоксичност, силна антимикробна активност. Освен в MRS бульон, бактериоцините се произвеждат и в среда, съдържаща XOS (като единствен източник на въглерод).

Значимост и приноси на изследването: Това е първият доклад за оценка на ролята на ABC транспортерите в експресията на бактериоцин от *P. pentosaceus*, култивиран в MRS и XOS.

12. Цветков, В., А. Хинков, Д. Годоров, Е. Бенова, И. Цонев, Т. Богданов, С. Шишков & К. Шишкова. 2020. Ефект на плазмено-активирана хранителна среда и вода върху репликацията и извънклетъчните вириони на вирус херпес симплекс тип 1. *Plasma medicine*, 10, 1, 15-26. DOI: 10.1615/PlasmaMed.2020033626. **SJR₂₀₂₀=0.228; Q3.**

Резюме: В тези експерименти използваме продължителен разряд на повърхностна вълна (SWD) в аргон при атмосферно налягане (с помощта на плазмена горелка). Плазмената горелка се поддържа с помощта на електромагнитна вълна с честота 2,45 GHz с приложени микровълнови мощности от 13, 15 и 20 W. При тези условия на разреждане дължината на плазмената горелка извън кварцовата тръба е ~1–1,5 cm, а температурата на газовата плазма не надвишава 40°C. Това позволява директно третиране на пробите с помощта на активната зона на разряда. В изследването за цитотоксичност само две от експерименталните настройки постигат до 50% оцеляване на клетъчния монослой след добавяне на третирана с плазма среда. Изследвайки ефекта на средата за третиране с плазмена горелка върху репликацията на херпес симплекс вирус-1, открихме, че нито един от приложените експериментални анализи не показва значителна защита върху клетъчния монослой. При изследване на вируцидното действие на третирана с плазма вирусна суспензия, разреждана със стерилна вода в съотношение 1:2, която е третирана в продължение на 300 s при мощност на вълната 13 W, се наблюдава намаляване на титъра на вирусната проба от 1,67 log₁₀ за разлика контролата. Използвайки оптична емисионна спектроскопия, открихме, че интензитетът на ОН се увеличава в точката на контакт

между плазмата и водната повърхност. Интензитетът на NO-γ също се увеличава до контактната точка с приложена мощност. Ние също така наблюдавахме количеството пероксидни радикали в плазмено обработена вода и хранителна среда в присъствието на луцигенин.

13. Цветков, В., Д. Тодоров, А. Хинков, К. Шишкова, Л. Велкова, А. Долашки, П. Долашка, С. Шишков. 2021. Ефект на екстракти от някои видове от род Mollusca срещу репликацията на човешки алфахерпес вируси. *Bulgarian Chemical Communications*, 53, Special Issue-A, 66–72. **IF₂₀₂₁=1.554, SJR₂₀₂₁=0.168; Q4.**

Резюме: В настоящото изследване са тествани хемолимфа от *Rapana venosa* (hRv), *Helix lucorum* (Hl) и *Eriphia verrucosa* (hEv), слуз от *Helix aspersa* (Ha) и структурна субединица α-HaH от хемоцианин от *H. aspersa* (sHa) спрямо репликация на чувствителни на антивирусното лекарство ацикловир (ACV) щамове F и BA на човешки алфахерпес вирус тип 1 и тип 2 *in vitro*. И шестте екстракта не показват антихерпесвирусна активност, използвайки базиран на МТТ колориметричен анализ за откриване на инхибиране на репликацията на човешки алфахерпесвируси (HHV). При вирусен анализ шестте тествани екстракта намаляват инфекциозността на двата вируса от двата използвани щам в различна степен и приложени в максимални нетоксични концентрации. Фракциите от хемолимфа от *R. venosa* (MW 30-100 kDa) и от *E. verrucosa* (MW 3-100 kDa) показват най-висока активност (над 99% инактивиране на инфекциозността на извънклетъчните вириони съответно от първи и втори тип вируси), достатъчна да се считат те за фармакологично значими. Хемолимфата от *R. venosa*, и *E. verrucosa* и слузта от *H. aspersa* имат малък ефект върху адсорбцията на BA щам на човешкия алфа херпесен вирус тип 2 и щам F на HHV 1. Ефектът върху първия тип е по-изразен.

14. Петрова, Д., У. Гашич, Л. Йочева, А. Хинков, З. Йорданова, Г. Чанева, Д. Мантовска, М. Паунов, Л. Иванова, М. Рогова, К. Шишкова, Д. Тодоров, А. Тошева, В. Капчина-Тотева, В. Василева, А. Атанасов, Д. Мишич, Г. Бончев и М. Жипонова. 2022. Котешка мента (*Nepeta nuda* L.) Филогенетика и метаболитни реакции при променливи условия на растеж. *Front. Plant Sci.* 13:866777. doi: 10.3389/fpls.2022.866777. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.866777>. **IF₂₀₂₁=6.627, SJR₂₀₂₁=1.359; Q1.**

Резюме: *Nepeta nuda* (котешка мента; *Lamiaceae*) е многогодишно лечебно растение с широко географско разпространение в Европа и Азия. Това изследване характеризира таксономичната позиция на *N. nuda*, използвайки технология за ДНК баркодиране за първи път. Тъй като лечебните растения са богати на вторични метаболити, допринасящи за техния адаптивен имунен отговор, ние изследвахме метаболитната корекция на *N. nuda*, действаща при променливи среди. Чрез сравнителен анализ на диво отглеждани и *in vitro* култивирани растения, ние оценихме промяната във фенолните и иридоидните съединения и свързаните с тях имунни дейности. Диворастящите растения от различни места в България съдържат различни количества фенолни съединения, проявяващи се с общо увеличение на цветовете в сравнение с листата, докато силно намаление се наблюдава при *in vitro* растенията. Подобна тенденция се наблюдава при антиоксидантната и антихерпесната активност на екстрактите. Антимикробният потенциал обаче е много подобен, независимо от условията на растеж. Анализът на екстрактите от *N. nuda* доведе до идентифицирането на 63 съединения, включително фенолни киселини и производни, флавоноиди и

иридоиди. Количественото определяне на съдържанието на 21 целеви съединения показва тяхното общо намаление в екстрактите от *in vitro* растения и само феруловата киселина (FA) е увеличена. Култивирането на *in vitro* растения при различно качество и интензитет на светлина показва, че тези променливи светлинни условия променят съдържанието на биоактивни съединения, като ескулин, FA, розмаринова киселина, цирсимаритин, нарингенин, рутин, изокверцетин, епидезоксилоганова киселина, хлорогенова киселина. По този начин това проучване генерира нова информация за регулирането на продуктивността на *N. nuda* с помощта на светлина и други условия на култивиране, които могат да бъдат използвани за биотехнологични цели

15. Тодоров, Д., В. Цветков, А. Хинков, К. Шишкова, С. Шишков, Д. Павлова и Д. Мантовска. 2022. Влияние на типа почва върху антихерпесните активности на *Teucrium chamaedrys*. *Fresenius environmental bulletin*, 31(9), 9831-9838. **IF₂₀₂₁=0,61, SJR₂₀₂₁=0.182; Q4.**

Резюме: Съставът на почвата е един от най-важните фактори, определящи метаболизма на растенията и от това - количеството на активните молекули, влияещи върху антивирусната активност на екстрактите. Нашето проучване се опитва да определи количествено влиянието върху антивирусния ефект на растението *Teucrium chamaedrys* L. върху човешкия патоген - човешки алфахерпес вирус. За да получим по-широк обхват, нашите екземпляри са събрани от източните Родопи, Рила планина и Софийска област, попадайки в нашия спектър от изследвания както на планинския, така и на равнинния климат и серпентиновите, силикатни и варовити почви. Най-активните екстракти са хлороформният сокслетов екстракт от района на с. Добромирци, инактивиращ екстрацелуларните вириони на HHV-2 до 99,57% и метанолов термостатен екстракт от същия район с над 99,99% активност. Влиянието върху цикъла на вирусна репликация е слабо, като повечето активни екстракти имат селективен индекс само 1,87. В резултат на проведените експерименти предполагаме, че почвата може да повлияе на антивирусната активност на популациите на *T. chamaedrys* в сравнение с не-серпентиновите популации. Това подчертава необходимостта от контрол на произхода на лечебните растения, когато се използват за тестване за антивирусни действия.

16. Ходжа, Р.; Тодоров, Д.; Хинков, А.; Шишкова, К.; Евстатиева, Я.; Николова, Д. *In vitro* скрининг на антивирусната активност на млечнокисели бактерии, изолирани от традиционни ферментирани храни. *Microbiol. Res.* 2023, 14, 333–342. <https://doi.org/10.3390/microbiolres14010026> **IF₂₀₂₂=1.5, SJR₂₀₂₀=0.483, Q4.**

Резюме: Изследванията на новоизолирани щамове на млечнокисели бактерии (ММК) са добра основа за разширяване на потенциала за приложението им във функционални храни, пробиотични хранителни добавки и други пробиотични продукти. Те проявяват различни функционални свойства, включително такива с антивирусна активност. Пробиотичните щамове могат да проявят своите антивирусни ефекти чрез различни механизми, включително директно взаимодействие с вируси, производство на антивирусни съединения или модулиране на имунната система. Десет новоизолирани ЛАВ щама от традиционни ферментирани хранителни продукти са тествани за определяне на тяхната антивирусна активност. Това проучване е проведено, за да се оцени ефектът на безклетъчните супернатанти (CFSs) от

изследваните щамове за ефекта върху вирусната репликация на човешките алфахерпесвируси - HHV-1 и HHV-2, както и за директната вируцидна активност. CFS на LAV щамове са използвани в нетоксични концентрации от 25%, 6,25% и 1,6%. Не е наблюдавана пряка вируцидна активност при тествани CFS, но пет от щамове наблюдават добре дефиниран ефект на инхибиране на вирусната репликация със селективен индекс (SI) от 4,40 до >54. За два от тези пет щамове - *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* KZM 2-11-3 и *Lactiplantibacillus plantarum* KC 5-12 е установена силна активност срещу HHV-2 със селективен индекс (SI) над 45, което е добра основа за по-нататъшни изследвания.

17. Шкондров, А., А. Хинков, В. Цветков, К. Шишкова, Д. Тодоров, С. Шишков, И. Стамболов, К. Йончева & И. Кръстева. 2023. *Astragalus glycyphyllos* L.: антивирусна активност и таблетирание на стандартизиран сух екстракт. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 37, 1, 2221752, <https://doi.org/10.1080/13102818.2023.2221752>. **IF₂₀₂₂=1,762, SJR₂₀₂₂=0.317; Q3.**

Резюме: *Astragalus glycyphyllos* L. намира широко приложение в българската народна медицина. Екстрактите от това растение имат антипролиферативен, противотуморен и имуностимулиращ ефект *in vitro* и *in vivo*. Целта на това проучване е да се изследва потенциалната антивирусна активност на стандартизиран екстракт от надземните части на растението и да се формулира в подходяща дозирана форма. Беше получен сух екстракт и неговият фитохимичен състав беше определен чрез ултрависоко ефективна течна хроматография – електроспрей йонизираща масспектрометрия с висока разделителна способност (UHPLC-HRESIMS). Екстрактът съдържа флавоноиди и предимно сапонини. 17(R),20(R)-3 β ,6 α ,16 β -трихидроксициклоартанил-23-карбоксилова киселина 16-лактон 3-O- β -D-глюкопиранозид се използва като еталон за количествено определяне. Екстрактът съдържа 3% сапонини. Антивирусната активност на екстракта е тествана срещу Simplexvirus humanalpha тип 1 (чувствителен към ацикловир) и тип 2 (резистентен към ацикловир) *in vitro*. Между 60% и 70% защита беше постигната срещу двата вирусни щамове, когато екстрактът (при максимална нетоксична концентрация от 0,6 mg/mL) беше добавен едновременно с и 1 час след инокулацията на говежди бъбречни клетки на Madine и Darby. Екстрактът също е тестван в комбинация с ацикловир само срещу Simplexvirus humanalpha тип 1 *in vitro*. Освен това, лиофилизираният екстракт се смесва с подходящи ексципиенти с цел получаване на таблетки чрез директно пресоване. Оптимизираните таблетки отговарят на изискванията на фармакопейта за разпад и ронливост. По този начин проучването демонстрира възможността за формулиране на стандартизиран екстракт от *A. glycyphyllos* в таблетки и техния потенциал за адювантно антивирусно приложение в по-нататъшни опити.