

Резюмета на основните резултати и научните приноси

в научните трудове на гл. ас. д-р инж. Десислава Антонова Маринкова-Калоянова

Основните резултати и научни приноси са обобщени в следните направления:

- I. Синтезиране на нови хибридни мембрани като носители за имобилизация на ензими и микроорганизми, и тяхното приложение при конструирането на биосензори;**
- II. Изолиране и пречистване на ензими;**
- III. Антимикробна активност на растителни екстракти и изследвания върху формирането, структурата и приложението на биофилми в процесите на биоремедиация;**
- IV. Синтезиране, модифициране и изследване на свойствата на нови пептидни аналози и тяхното приложение в медицинската практика;**
- V. Приложение на научна публикация с педагогическа насоченост;**

Научни приноси към направление I: Синтезиране на нови хибридни мембрани като носители за имобилизация на ензими и микроорганизми, и тяхното приложение при конструкцията на биосензори;

Изследванията в това направление са свързани с разработването на методи за синтезиране на нови хибридни матрици, съдържащи както полимерна част така и неорганичен компонент с цел подобряване на биосъвместимостта им към ензими и микробиални клетки. Към направлението са представени и статии свързани с конструкцията на биосензори, разглеждането на свойствата на новосинтезирани полимерни мембрани на основата на дендримери, както и приложението на едновременната имобилизация на ензими; конструкции на амперометрични и оптични сензори и изследване на основните параметри, като време за отговор, линеен диапазон, възпроизводимост; математически модели по отношение на оптимизиране на описаните биосензорни измервания в сравнение със стандартните методи като HPLC и ELISA.

В последно време се прилагат и измервания с биосензор чрез използването на повърхностен плазмонен резонанс (SPR) и кварцово-кристална микровезна (QCM), в съчетание с биологичен рецептор. Въз основа на това редица ензими и микробни клетки са имобилизирани върху новосинтезирани хибридни мембрани. Мембраните съдържат

частици от SiO₂, TiO₂, полимери и дендримери и са прикрепени към повърхността на сензора. Те се прилагат за определяне на ксенобиотици в мляко, ядки и други хранителни и селскостопански материали.

Резултатите от представените публикации представят конструирането на амперометричен биосензор, чрез имобилизацията на ацетилхолинестераза и холиноксидаза. Изследването е описано, чрез прилагане на биосензора в детектирането на органофосфатни пестициди като е засегнато и инхибирането на ензимнокатализираните реакции. Биоактивните компоненти на сензора се състоят от ацетилхолинестераза или холиноксидаза, ковалентно имобилизирани върху два вида нови полимерни синтетични мембрани. Използвани са два вида съполимери. Изследвани са техническите характеристики на биосензора като: време за отговор, линеен диапазон и операционна стабилност. Също така са изследвани и факторите влияещи върху процеса на инхибиране.

Друг принос на представените разработки е имобилизацията на мултиензимна система пероксидаза-тирозилаза към новосинтезирани полимерни мембрани, съдържащи целулозен ацетат пропионат. Потенциалното приложение е за мониторинг на околната среда, регистриране на феноли в отпадъчни води, хранителни продукти и в медицината. Публикувани са и резултати свързани с конструирането на биосензор на основата на ковалентно имобилизирана липоксигеназа. Измерванията показват, че линейния обхват на биосензор, с ковалентно имобилизиран ензим проявява по-широк спектър на измерване. Оперативната стабилност прави измерванията лесно възпроизводими. Проведените изследвания показват, че те могат да бъдат използвани за измерване в реални условия.

Основните резултати от изследванията в направлението свързано със синтезиране на нови хибридни мембрани като носители за имобилизация на ензими и микроорганизми, и тяхното приложение при конструкцията на биосензори са представени в следните материали:

1. Lyubov Yotova, SpaskaYaneva, **Dessislava Marinkova**, Biomimetic nanosensors for determination of toxic compounds in food and agricultural products, **(REVIEW)**, Journal of Chemical Technology and Metallurgy, 48, (3), 2013, 215-227

Резюме

През последните години са разработени и използвани в широк спектър аналитични методи с приложения в биомедицината, здравеопазването, създаването на нови лекарства,

мониторинг на околната среда, за откриване на биологични, химически и токсични агенти и т.н. в областта на научните изследвания. В последно време се прилагат и измервания с биосензор чрез използването на повърхностен плазмонен резонанс (SPR) и кварцово-кристална микровезна (QCM), в съчетание с биологичен рецептор. Въз основа на това редица ензими и микробни клетки са имобилизирани върху новосинтезирани хибридни мембрани. Мембраните съдържат частици от SiO₂, TiO₂, полимери и дендримери и са прикрепени към повърхността на сензора. Те се прилагат за определяне на ксенобиотици в мляко, ядки и други хранителни и селскостопански материали. Целта на тази разработка е да се обобщят някои от най-значимите научни постижения в областта на конструирането на биомиметични наносензори на базата на имобилизирана тирозиназа за определяне на токсични съединения и интелигентни биосензори за определяне на микотоксини.

Научен принос: Представено е научно обобщение на някои от най-значимите научни постижения в областта на конструирането на биомиметични наносензори на базата на имобилизирана тирозиназа за определяне на токсични съединения и интелигентни биосензори за определяне на микотоксини.

2. J.-M. Ringiard, E. Caplain, M. Michiel, **D. Marinkova**, L. Yotova, S. Serfaty, J.-Y. Le Huerou and P. Griesmar Design of poly(N-acryloylglycine) materials for bioincorporation, *Journal of Applied Polymer Science*, 130 (2), 835–841, 2013;

Резюме

За инкорпориране на микроорганизми и запазване на тяхната свързаност към различни матрици, бяха синтезирани нови мембрани на основата на поли(N-акрилоглицин) при подходящи условия. За да се разбере влиянието между микроорганизмите и органичната част на матриците, различни мрежи от поли(N-акрилоглицин) бяха синтезирани и охарактеризирани. Беше извършена съ-полимеризация между две различни съединения. Специфично бяха контролирани и сравнени термичните и набъбващите свойства на новосинтезираните матрици. Изследванията показват, че съществува съотношение между набъбващите свойства на материалите и инкорпорирането на биомолекулите. Успешно бяха свързани клетки на *Pseudomonas species 1625* към разглежданите носители. Биологичната активност на бактериите успешно беше запазена, което позволява използването на тези материали за иновативни биологични приложения.

Научен принос: Синтезирани са нови хибридни полимерни материали на основата на N-акрилоилглицин с цел прилагането им като носители за инкорпорирането на прокариотни микробиални клетки и проследяване на биологичната им активност.

Lyubov Yotova, SpaskaYaneva, **Dessislava Marinkova**, Stephan Serfaty, Coimmobilization of peroxidase and tyrosinase onto hybrid membranes obtained by the sol gel method for the construction of an optical biosensor, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 27 (3), 2013, 3885-3889;

Резюме

Чрез зол-гел метод бяха синтезирани две групи хибридни мембрани на основата на силициеви прекурсори ETMS (етилтриметокси силан) и MTES (метилтриетокси силан) и целулозни производни. Чрез ковалентна имобилизация бяха имобилизирани пероксидаза изолирана от хрян и тирозиназа изолирана от гъби.

Изследвани са кинетичните параметри на имобилизираните ензими, pH и температурен оптимум. Резултатите показват по-висока относителна и остатъчна активност на ензима имобилизиран върху мембрани съдържащи целулозен ацетат пропионат с висока молекулна маса САР/Н. Мембраните с най-добри параметри са използвани като носители на мултиензимна система пероксидаза-тирозианаза. Конструирани са и оптичен биосензор с кислороден електрод. Потенциалното приложение на сензора е за мониторинг на околната среда, регистриране на феноли в отпадъчни води, хранителни продукти и в медицината.

Научен принос: Синтезиране на хибридни мембрани на основата на силициеви прекурсори и целулозни производни, приложени като носители за имобилизация на пероксидаза и тирозиназа. Конструирани са и оптичен биосензор с потенциално приложение за детектиране на замърсени отпадъчни води с фенол.

3. Smart Biosensors for Determination of Mycotoxines, Lyubov Yotova, Ivo Grabchev, Rossica Betcheva, and **Dessislava Marinkova**, M.V. Magni (ed.), *Detection of Bacteria Viruses, Parasites and Fungi*, NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology, DOI 10.1007/978-90-481-8544-3_17, © Springer Science+Business Media B.V. 2010;

Резюме:

Микотоксините са биологични замърсители. Те са токсични метаболити, произведени от редица фунги в храни и фуражи. Те са може би най-известните и най-интензивно изследвани микотоксини в света. Замърсяването на храните с микотоксини може да бъде също така и обект на биотероризъм.

Микотоксините са нелетливи, относително с ниска молекулна маса, вторични метаболитни продукти, които може да повлияят по най-различни начини на хората. Тези съединения се считат за вторични метаболити, защото те не са необходими за растежа на фунгите и са просто продукт от основните метаболитни процеси. Функциите на микотоксините не са напълно проучени, но е установено, че те играят ключова роля в антагонистичните процеси, свързани с микроорганизми от същата среда. Също така се смята, че помагат на паразитните гъби да нахлуват в тъкани гостоприемници. Количеството на токсини, които са с неблагоприятни последици за здравето варира широко и зависи от имунната система на всеки човек. Целта на настоящото проучване е да представи конструкцията на нови биосензори за определяне микотоксини в храни, чрез използване на имобилизирани ензими и антитела върху нови полимерни матрици.

Следващите изследвания, отнасящи се до конструкцията на биосензори е да се разгледат свойствата на новосинтезирани полимерни мембрани на основата на дендримери;, както и приложението на едновременната имобилизация на медиатори, флуоресцентни багрила и биохимични молекули; конструкции на амперометрични и оптични сензори както и изследване на основните параметри, като време за отговор, линеен диапазон, възпроизводимост; математически модели по отношение на оптимизиране на измервания на биосензорни, описани и в сравнение със стандартните методи като HPLC и ELISA.

Научен принос: Представена е конструкцията на нови биосензори за определяне на микотоксини в храни чрез използване на имобилизирани ензими и антитела върху нови полимерни матрици.

4. Yotova L., **Marinkova D.**, Application of Immobilized Lipxygenase in Biosensors Design for Aflatoxin B1 2008, BioPS'08, November 4-5, III.37-III.46;

Резюме

Целта на това изследване е да се конструира биосензор на основата на ковалентно имобилизирана липоксигеназа и кислородни електроди. Измерванията, проведени с двата вида биосензори показват, че линейния обхват на биосензор, с ковалентно имобилизиран ензим проявява по-широк спектър на измерване. Оперативната стабилност прави измерванията лесно възпроизводими. И двата електрода са с много добри корелационни коефициенти и с малко стандартно отклонение. Проведените изследвания показват, че те могат да бъдат използвани за измерване в реални условия.

Научен принос: Конструиран е биосензор чрез ковалентна имобилзация на липоксигеназа. Линейният обхват на биосензора е с широк спектър на измервания, които могат да бъдат приложени в реални условия.

5. **Marinkova D., Yaneva S., Yotova L., Mateva R.**, “Biosensor for Pesticides Based on Valerolacton Copolymer”, Bioautomation, 2007, 8, Suppl., 1, 162-172;

Резюме

Конструирането на амперометричен биосензор се основава на имобилизацията на ацетилхолинестераза и холиноксидаза. Изследването е описано, чрез прилагане на биосензора в детектирането на органофосфатни пестициди чрез ензими, като е засегнато и инхибирането на ензимокатализираните реакции. Биоактивните компоненти на сензора се състоят от ацетилхолинестераза или холиноксидаза, ковалентно имобилизирани върху два вида нови полимерни синтетични мембрани. Използвани са два вида съполимери. Изследвани са техническите характеристики на биосензора като, време за отговор, линеен диапазон и операционна стабилност. Също така са изследвани и факторите влияещи върху процеса на инхибиране.

Научен принос: Конструиран е амперометричен биосензор на основата на имобилизирана ацетилхолинестераза и холиноксидаза за детекция на органофосфатни пестициди.

6. **Marinkova D., Georgieva N., Yotova L., Garkova D.**, “Kinetic study of cadmium and copper bioaccumulation by yeast cells immobilized on synthetic polymer” Proceedings Bioprocess Systems Oct. 25-26, 2005, Sofia;

Резюме:

Индустриалните процеси и продуктите от човешката дейност са едни от най-сериозните замърсители на околната среда. Главен клас замърсители са тежките метали и техните отпадни субстанции. Йоните на тежките метали – мед и кадмий, също принадлежат към едни от най-токсичните замърсители на биологичните системи. Като основен клас микроорганизми, които са известни със способностите си за биоремедиация са дрождите. Технологиата се основава на възможността на микроорганизмите да трансформират органичните и неорганични съединения. В настоящото проучване са разгледани имобилизираните върху полиамидни гранули, клетки на щам *Trischosporon cutaneum* R 57, периодически култивирани на течна хранителна среда, съдържаща ралични концентрации на медни и кадмиеви йони. Разгледано е акумулирането на тежки метали в зависимост от използваните концентрации. Изследван е и предполагаемият механизъм на биоаккумуляция от филаментозните дрожди.

Научен принос: Изследвана е биоаккумуляцията на тежки метали в различна концентрация от клетки на щам „*Trischosporon cutaneum* R 57“.

Научни приноси към направление II: Изолиране и пречистване на ензими;

Основните резултати получени от изследванията представени в това направление са свързани с приложение на два метода за изолиране и пречистване на ензими от клас оксидоредуктази и хидролази от различни растителни и микробиални източници. Основен принос е изследването и проучването на щам *Pseudozyma antarctica*, за който е известно, че може да продуцира термоустойчива извънклетъчната липаза. Направеното проучване докладва за синтезата на извънклетъчна липаза от *Pseudozyma antarctica*. Изчислени и сравнени са основните кинетични параметри на изолираните ензими, както рН и температурен оптимум.

Основните резултати от изследванията в направлението свързано с изолиране и пречистване на ензими са представени в следните материали:

1. Borislav Borisov, Daniela Manova, **Dessislava Marinkova**, Lyubov Yotova, Dancho Danalev, Production and chracterization of lipase from *Pseudozyma antarctica* NBIMCC 8340, JCTM, 50 (5), pp 619-622, 2015;

Резюме:

Липазите са серинови хидролази, определени като триацил-глицерол ацилхидролази. Те катализират хидролитични и синтетични реакции, показващи субстрат регио- и стерео селективност. Известно е, че щамът *Pseudozyma antarctica* изолиран в Антарктика, може да продуцира термоустойчива извънклетъчната липаза. Направеното проучване докладва за синтеза на извънклетъчна липаза от *Pseudozyma antarctica*. Щамът се развива при периодично култивиране, като са наблюдавани различни параметри в процеса на пролиферация. Извършени са няколко процедури за развитие на щама с цел да се намерят оптималните условия на растеж. Освен това в хода на проучването е изследвана активността на изолираната липаза, температурния и рН оптимум чрез титарметричен метод. Установено е, че температурния оптимум на изследвания ензим е при 60 ° С, а рН оптимума е 8.0. Специфичната активност на изолираната липаза е 97,2 U / мг.

Научен принос: Изследвано е изолирането и пречистването на извънклетъчна липаза от клетки на щам *Pseudozyma antarctica*. Установено е, че температурния оптимум на изследвания ензим е при 60 ° С, а рН оптимума е 8.0. Специфичната активност на изолираната липаза е 97,2 U / мг.

2. Polina Velichkova, **Desislava Marinkova**, Spaska Yaneva, Lyubov Yotova, Isolation and Purification of Tyrosinase from Different Plant Sources, Annuaire de l'Université de Sofia "St. Kliment Ohridski" Faculte de Biologie 2015, volume 100, livre 4, pp. 70-75, First National Conference of Biotechnology, Sofia 2014

Посредством два метода е изолиран и пречистен ензимът- тирозиназа от картофи (*Solanum tuberosum*), банан (*Musa acuminata*) и *Agaricus bisporus*. Целта на това изследване е да се сравнят специфичните активности на ензимите, изолирани от различни източници, използвайки промишлено пречистена тирозиназа като контролна проба. Беше определен температурния и рН оптимум, както и кинетичните параметри на изолирания ензим.

Научен принос: Изолиране и пречистване на ензим тирозиназа от банан, картофи и *Agaricus bisporus*, и сравнение на основните му кинетични параметри.

Основни резултати и научни приноси в направление III: Антимикробна активност на растителни екстракти и изследвания върху формирането, структурата и приложението на биофилми в процесите на биоремедиация;

През годините редица растения и техните екстракти, са подложени на проследяване на техните антибактериални свойства. Увеличаването на броя на нежелани реакции, причинени от антибиотици и други лекарства, използвани в медицинската практика обръща вниманието на много учени към изследване на свойствата и антибактериалната активност на продукти от националната кухня. Направеното проучане е свързано с проследяване на антибактериалните свойства на мед, чесън, лук и техните екстракти, произведени в България.

Основен принос от следващите изследвания е запазването на жизнеността на инкорпорирани клетки на щам „*Pseudomonas species 1625*” в синтезирани полимерни хибридни матрици на основата на N-акрилоилглицин. Специфично са контролирани и сравнени термичните и набъбващите свойства на новосинтезианите матрици. Изследванията показват, че съществува съотношение между набъбващите свойства на материалите и инкорпорирането на биомолекулите. Биологичната активност на прокариотните клетки успешно е запазена, което позволява използването на тези материали за иновативни биологични приложения. Индустриалните процеси и продуктите от човешката дейност са едни от най-сериозните замърсители на околната среда. Главен клас замърсители са тежките метали и техните отпадни субстанции. Йоните на тежките метали – мед и кадмий, също принадлежат към едни от най-токсичните замърсители на биологичните системи. Като основен клас микроорганизми, които са известни със способностите си за биоремедиация са дрождите. Технологията се основава на възможността на микроорганизмите да трансформират органичните и неорганични съединения. Научен принос на представените изследвания е имобилизацията върху полиамидни гранули на клетки на щам *Trischosporon cutaneum R 57*, периодически култивирани на течна хранителна среда, съдържаща различни концентрации на медни и кадмиеви йони. Разгледано е акумулирането на тежки метали в зависимост от използваните концентрации. Изследван е и предполагаемият механизъм на биоаккумуляция от филаментозните дрожди.

Основните резултати от изследванията в направлението свързано с антимикробна активност на растителни екстракти и изследвания върху формирането, структурата и

приложението на биофилми в процесите на биоремедиация са представени в следните материали:

1. **D. Marinkova**, M. Michel, R. Raykova, D. Danalev, S. Yaneva, L. Yotova, P. Griesmar, Investigation on the proliferation of Gram negative bacterial cells onto nanohybride sol-gel carriers, *Bulgarian Chemical Communications, Volume 47, Number 1 (pp. 436–444, 2015;*

Резюме

Представената статия е свързана със синтез и характеристика на нови хибридни зол-гелни материали. Приготвени са няколко носителя на основата на поли (N-акрилоилглицин) (NAGly), съдържащи поли (етилен гликол) диметакрилат (PEGDM). Чрез биохимични методи е изследвано формирането на биофилми от клетки на щамове *Escherichia coli* и *Pseudomonas fluorescents* върху синтезираните матрици. Синтезирани са два вида хибридни гелове с инкорпорирането на неорганични прекурсори. Чрез кварцово-кристална микро-везна са изследвани реологичните свойства на получените гелове и формираните биофилми. Експерименталните резултати показват, че получените матрици са подходящи за формиране на биофилми.

Научен принос: Синтезирани са и охарактеризирани зол-гелни материали като носители за формиране на биофилми от клетки на *Escherichia coli* и *Pseudomonas fluorescents*. Успешно са изследвани реологичните характеристики на получените носители и формираните биофилми чрез кварцово-кристална микровезна.

2. **Dessislava Marinkova**, Dancho Danalev, Georgi Genchev, Antimicrobial activity of Bulgarian products and their extracts containing bioactive components, *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 50, (1), pp13-19, 2015;

Резюме

Фитонцидите са органични съединения, произведени от растения, за да бъдат предпазени от различни микроорганизми. През годините редица растения и техните екстракти, са подложени на проследяване на техните антибактериални свойства. Увеличаването на броя на нежелани реакции, причинени от антибиотици и други лекарства, използвани в медицинската практика обръща вниманието на много учени към изследване на свойствата и антибактериалната активност на продукти от националната кухня. Направено проучване е свързано с проследяване на антибактериалните свойства на мед, чесън, лук и техните екстракти, произведени в България.

Като тестови микроорганизми са използвани *Arthrobacter oxydans* 1388 (за пример за Грам⁺ микроорганизъм) и *Pseudomonas fluorescens* 1442 (пример за Грам⁻ микроорганизъм). Нашите изследвания показват, че *Arthrobacter oxydans* са чувствителни към антимикробната активност на мед, а *Pseudomonas fluorescens* показват резистентност. Екстрактите от чесън показват добра активност и срещу двата микробни щама.

Научен принос: Изследвани са антимикробните свойства на мед, чесън, лук и техните екстракти, чрез приложението на клетки от *Arthrobacter oxydans* 1388 и *Pseudomonas fluorescens* 1442. Основен резултат от представената статия е антимикробната активност на разглежданият екстракт от чесън.

3. **Marinkova D.**, Yotova L., Ringear J.-M, Griesmar P, “Influence of Ni²⁺ onto urease activity produced by biofilms of *Arthrobacter oxydans* 1388, *Biotechnology and Biotechnological equipment*, Volume 28, Issue 2, 266-270, 2014

Резюме

В представеното изследване се разглежда синтезирането на нови TiO₂ базирани хибридни материали, съставени от органичен полимер-целулозен ацетат бутират и съполимер на акриламид акрилонитрил (AN+AA). Чрез биохимични методи е изследвана ефективността на имобилизираните клетки от щам *Arthrobacter oxydans* 1388 към новосинтезираните мембрани. Получените резултати показват, че матрицата съставена само от органичен полимер е по-подходяща за образуване на биофилм в сравнение с мембраната, която съдържа и метален компонент в състава си. Изследвано е и влиянието на Ni²⁺ върху уреазната активност на формирания биофилм. Експерименталните резултати показват, че 2мг/мл концентрация на Ni²⁺ в хранителната среда е по-подходяща за пролиферацията на биофилма.

Научен принос: Чрез биохимични методи е изследвана ефективността на имобилизираните клетки от щам *Arthrobacter oxydans* 1388 към полимерни мембрани синтезирани на основата на целулозен ацетат бутират и съполимер на акриламид акрилонитрил. Експерименталните резултати показват, че 2мг/мл концентрация на Ni²⁺ в хранителната среда е по-подходяща за пролиферацията на биофилма.

4. **D. Marinkova**, L. Yotova, D. Danalev, D. Stoykov, J.-M. Ringear, M. Michiel, S. Serfaty, P. Griesmar, Investigation of newly synthesized biocompatible materials as biofilm carriers, *Bulgarian Chemical Communications*, Volume 45, Number 4 (pp. 530–535), 2013;

Резюме

Биоразграждането на анилина е проблем от голямо значение и привлича вниманието на много изследователи. Съдържанието на анилин в околната среда е заплаха за човешкото здраве, което налага разкриване на нови методи за пречистване. Изследователи докладват за редица случаи на микробна трансформация за разграждане на това токсично съединение. Повечето от микроорганизмите в природата в промишлени и клинични среди са прикрепени към дадена повърхност. Целта на това изследване е да се синтезират нови хибридни биосъвместими материали и да се проучи възможността на получените матрици като носители за формиране на биофилми. В настоящото проучване е разгледано сравнението на биофилми, формирани върху различни матрици от клетки на Грам ⁽⁻⁾ бактерии *Pseudomonas species 1625*, както и възможността на биофилмите да бъдат приложени в процесите на биоразграждане на анилин.

Научен принос: Синтезирани са хибридни биосъвместими матрици за формиране на биофилми от клетки на щам *Pseudomonas species 1625* и приложението им в разграждането на анилин.

5. L.Yotova, **D.Marinkova**, Investigation of the formation, structure and application of biofilms (REVIEW), Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy, 47, 3, 2012, 243-250;

Резюме

Развитието на промишлеността предизвиква сериозни промени в състава на водата, почвата и въздуха, което от своя страна води до нарушения в екологичното равновесие. Това е проблем актуален за целия свят, обуславящ необходимостта от въвеждането на екологично по-чисти технологии и по-ефективни обработки на отпадъците. Води се целенасочена политика по отношение контрола върху състоянието на компонентите и факторите на околната среда. От изключително значение за нормалното функциониране на всички екосистеми е въпросът с пречистването на замърсените водни басейни и отпадъчни води. Биоремедиацията е иновационна технология, която оказва контрол върху замърсяванията. Тя използва биологични системи, които катализират деградацията или трансформацията на различни токсични химикали до по-малко вредните им форми.

През последните години основна роля в биоремедиацията играят биофилмите. Те намират приложение, както при пречистването на отпадъчни води от токсични замърсители и тежки метали, така и при процеса на метанизация. Някои биофилми са

полезни, осигуряващи ценно обслужване на човешкото общество или функционирането на естествените екосистеми. Други биофилми са вредни, причиняващи сериозни здравословни и икономически проблеми. Изследването на механизмите на образуване на биофилмите, растежа и отстраняването им е ключът към произвеждането на полезни и редуцирането на вредни биофилми.

Научен принос: Направено е обобщено научно проучване на изследвания в областта на формиране, изследване на структурата и приложението на биофилми от прокариотни и еукариотни микроорганизми в пречистване на отпадъчни води от токсични замърсители.

6. **Dessislava Marinkova, Iren Tsibranska, Lyubov Yotova, Nelly Georgieva, An Evaluation of Kinetic Parameters of Cadmium and Copper Biosorption by immobilized Cells, Bioautomation, 2007, 7, 46-56;**

Резюме

Биоремедиацията е използването на живи организми в процеса на понижаване или премахване на опасните за околната среда токсични вещества. Тази технология се основава на използването на микроорганизми за трансформиране на органични и неорганични съединения. Изследванията са проведени със свободни и имобилизирани клетки на шам *Trichosporon R57*. Микроорганизмите са култивирани в течна среда в присъствието на различни концентрации на кадмиеви и медни йони. Проследено е едновременното усвояването на тежките метали от дрождите. Приложен и изследван е кинетичен модел на биосорбция на медни и кадмиеви йони от *Trichosporon cutaneum*.

Научен принос: Култивиране на свободни и имобилизирани клетки от шам *Trichosporon R57* в течна хранителна среда в присъствието на различни концентрации на медни и кадмиеви йони, като е проследена биоаккумуляцията на тежките метали. Изследвани са кинетичните параметри процеса.

Основни резултати и научни приноси в направление IV: Синтезиране, модифициране и изследване на свойствата на нови пептидни аналози и тяхното приложение в медицинската практика;

Основните научни приноси към това направление са синтезирането на различни пептидни аналози, както и тяхното приложение в медицинската практика. Описани са някои

интересни подходи за синтез. Разгледана е антикоагулантната активност на амидни аналози на антистазин, като промяната във функционалните групи в пептидната последователност довежда до повишаване на антикоагулантните свойства.

Друг принос от представените научни публикации в това направление е изследването на свойствата на различни хетероциклени съединения, включително и пирол (Pyr) съдържащи: като анти-туберкулозни, противовъзпалителни, аналгетични агенти. В представената научно-изследователска работа е изследвана синтезата на серия от MIF миметици, включени в пирол - съдържащ хетероцикъл с цел създаване на хибридни молекули с по-добро аналгетично действие и по-добра селективност към различни опиоидни рецептори.

Друг принос от представените резултати в разглежданото направление е синтезирането на аналог на рибаверин с потенциални инхибиторни свойства срещу липоксигеназа изолирана от соя. Новосинтезираният инхибитор имитира добре известен естествен инхибитор на различни ензимни системи рибаверин, но се различава по структурните особености, които притежава.

Основните резултати от изследванията в направлението свързано със синтезиране, модифициране и изследване на свойствата на нови пептидни аналози и тяхното приложение в медицинската практика са представени в следните материали:

1. Dancho L. Danalev, Stanislava P. Vladimirova, Borislav P. Borisov, Hristina H. Nocheva, Adriana I. Bocheva, **Dessislava A Marinkova**, Emilia D. Naydenova, Valentin S. Lozanov, Synthesis and Analgesic Activity of New Analogues of Tyr-MIF including pyrrole moiety, International Journal of Peptide Research and Therapeutics, June 2016, Volume 22, Issue 2, pp.243-248

Резюме:

Болката е един от многото медицински проблеми на съвременното общество. Заедно с редица други заболявания като инфаркти, инсулти, тумори и др тя се нарежда сред първите. Има огромен брой лекарства повече или по-малко ефективни срещу болката. В световен мащаб търсенето на нови молекули с аналгетично действие и по-добра селективност или по-голям ефект при по-ниски дози продължава. В допълнение някои групи учени работят в областта на подобрене на свойствата на известните молекули в медицинската практика като модифицирането на различни хетероцикленни съединения. Други групи работят върху създаването на нови миметици на естествени молекули с добре

установена физиологична активност. В този глобален контекст, тук ние докладваме за синтезирането на две нови съединения, които са хибридни молекули между специфично заместен пирол (Pyr) и аналози на разглеждания пептид - Tyr-MIF-1. Всички изследвания на аналгетичното действие показват по-добра активност в същата доза от природния пептид Tyr-MIF-1, за аналога Pyr-Tyr-Phe-Leu-Ala-OH. Съединението Pyr-Ala-Leu-Phe-Tyr-OH не е с по-добър ефект, сравним с този на изходния пептид.

Научен принос: Синтезирани са две нови съединения които са хибридни молекули между специфично заместен пирол (Pyr) и аналози на Tyr-MIF-1. Всички изследвания на аналгетичното действие показват по-добра активност в същата доза от природния пептид Tyr-MIF-1, за аналога Pyr-Tyr-Phe-Leu-Ala-OH.

2. Dancho L. Danalev, Stanislava P. Vladimirova, Borislav P. Borisov, Darinka G. Krasteva, **Dessislava Marinkova**, Hristina H. Nocheva, Adriana I. Bocheva, Emilia D. Naydenova, Valentin S. Lozanov, Design And Synthesis Of New Hybrid Molecules Comprising Peptide Moiety With Potential Analgesic Activity, *Peptides, Proceedings of the 33rd European Peptide Symposium*, 92-93, 2015;

Резюме:

Има различни видове и степени на болкоусещане, които могат да бъдат причинени от различни фактори, но във всеки случай то представлява неприятно преживяване. Причините за различните видове болка са генерирани в различни части на човешкото тяло – главен мозък и гръбначен мозък, симулиране на рецепторите за болка и сетивни аферентни пътища на периферната нервна система от различни фактори. Ежедневно над 70 милиона души по света са третирани с различни средства за предотвратяване на остра или хронична болка. Кортикостероидите са най-често използвани в практиката като лекарство за контрол на болката и възпалението. За съжаление, наблюдаваните нежелани странични ефекти довеждат до ограничаване на използването им. Това провокира редица изследователски групи да съсредоточат усилията си в търсенето на алтернативни синтетични вещества с различна химична структура. Това доведе до интегрирането на новооткрити лекарства в една група, наречена NSAID. Тяхната ефикасност е причината да бъдат най-широко предписваните лекарства в света. Представеното проучване е с цел да се изследва на какво се дължи техния мощен обезболяващ ефект. Изследвани са

свойствата на различни хетероциклени съединения, включително и пирол (Pyr) съдържащи, като анти-туберкулозни, противовъзпалителни, аналгетични агенти, използвани още в миналия век [1]. От друга страна, пептидите изпълняват различни функции в човешкото тяло. Те могат да бъдат невротрансмитери, невромодулатори, хормони и др. Модификацията в структурата на някои природни опиоидни пептиди, и комбинирането им в хибридни структури с различни хетероциклени съединения е изследвана като жизнеспособна алтернатива на съществуващите търговски нестероидни противовъзпалителни и анти-болкови агенти.

Научен принос: Изследвана е синтезата на серия от MIF миметици, включени в пирол - съдържащ хетероцикъл с цел създаване на хибридни молекули с по-добро аналгетично действие и по-добра селективност към различни опиоидни рецептори.

3. Spaska A. Yaneva, **Dessislava A. Marinkova**, Raya N. Raykova, Lilia Ilieva, Lyubomir T. Vezenkov, Lyubov K. Yotova, Dancho L. Danalev, Study of Inhibition Activity of Peptide Containing Galantamine Derivatives Towards Tyrosinase, *Peptides, Proceedings of the 33-rd European Peptide Symposium*, pp254-255, 2015

Резюме:

В момента с голям научен интерес е изследването на участието на меланин (един от най-разпространените пигменти включително в човешката кожа) в процесите на образуване на злокачествен меланом, един от животозастрашаващите кожни тумори.

Тирозиназа (ЕО 1.14.18.1.) съдържаща Cu^{+2} в активния си център, катализира две реакции на синтез на меланин. Инхибиторите на тирозиназата привличат научно внимание, поради тяхната способност да блокират този ключов ензим отговорен за хипер-пигментацията. Научното изследване е съсредоточено към конструкцията на биосензор, на основата на тирозиназа, както и проследяване на реакции на инхибиране на ензима чрез пептид-съдържащи галантамин производни. Синтезирани са серия инхибитори, които наподобяват структурата на с естествените субстрати на тирозиназата - L-DOPA и L-тирозин, като е изследвана способността на тези нови съединения да инхибират тирозиназата активност.

Научен принос: Изследвано е конструирането на биосензор с имобилизирана тирозиназа и инхибиторния ефект на серия синтезирани инхибитори, наподобяващи структурата на естествените субстрати на тирозиназата - L-DOPA и L-тирозин

4. Dancho Danalev, **Dessislava Marinkova**, Raya Raykova, Lyubov Yotova, Iren Tsibranska, Konstantin Savov, Galina Obretenova, Kinetic Investigation and Anticoagulant Activity of Amide Analogues of Isoform 2 and 3 of Antistasin, , International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 2014, 20 (2), 195-200;

Резюме

Процесът на съсирването на кръвта защитава организма от загуба на кръв, в случай на повърхностни наранявания като гарантира в кръвообращението да не се образуват тромби. Няколко серинови протеази и техните инхибитори изпълняват важна роля в процеса на кръвосъсирването като притежават силен потенциал и алтернатива за профилактика и лечение на заболявания, свързани с кръвосъсирването. В настоящото проучване се разглежда антикоагулантната активност на новосинтезирани амидни аналози на изоформи 2 и 3 на антистазин. Нашето изследване показва, че замяната на функционални групи в пептидната последователност, значително увеличава антикоагулантната активност. Освен това са проследени и някои кинетични изследвания върху същите аналози. Получените кинетични параметри корелират с антикоагулантната активност на новосинтезираните аналози.

Научен принос: Синтезирани са амидни аналози на изоформи 2 и 3 на антистазин, което показва, че замяната на функционални групи в пептидната последователност, значително увеличава антикоагулантната им активност.

5. Raya N. Raykova, Lachesar S. Manovski, **Dessislava A. Marinkova**, Lyubov K. Yotova, Dancho L. Danalev, SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF INHIBITOR PROPERTIES OF NEW ANALOGUE OF RIBAVIRIN AGAINST SOYBEAN LIPOXYGENASE, Annuaire de l'Université de Sofia "St. Kliment Ohridski" Faculte de Biologie 2015, volume 100, livre 4, pp. 129-134 First National Conference of Biotechnology, Sofia 2014

Резюме:

Целта на това изследване е да бъде синтезиран аналог на рибавирин с потенциални инхибиторни свойства срещу липоксигеназа (LOX), изолирана от соя. Новосинтезираният инхибитор имитира добре известен естествен инхибитор на различни ензимни системи рибавирин, но се различава по структурните особености, които притежава.

Проучени са различни условия на реакциите на синтез, като се използва донорно-акцепторен механизъм в присъствието на някои Люисови киселини.

Научен принос: Синтезиран е аналог на рибавирин с потенциални инхибиторни свойства срещу липоксигеназа, изолирана от соя, който имитира естествения инхибитор рибавирин, но се различава по структура. Синтетичният аналог предоставя възможност за контрол на активността на липоксигеназа, като участник в мултиензимните системи, формиращи възпалителните процеси в човешкото тяло.

6. Danalev, D.L.; Raykova, R.N.; **Marinkova, D.A.**; Yotova, L.K.; Bayramov, S.G.; Hristova, B.H.; Stoyanova, V.S. Synthesis of new hybrid cell penetrating peptides-medical drugs molecules, *Bulgarian Chemical Communications*, 2012, *Proceeding of 6th Bulgarian Peptide Symposium*, 44 (3), 238–241; **IF – 0.29**

През 1988 е отрито забележителното свойство на група пептиди да преминават през клетъчната мембрана, независимо от мембранните рецептори. Те предизвикват промени в мембраната, водещи до поява на пропускливост. Тези молекули са наречени мембранно проникващи пептиди (CPP). Един представител на тази група съединения е т.нар. „sweet agrow” пептид (SAP). В тази работа ние докладваме синтезата на 4 аналога на SAP. Описани са и някои интересни подходи за синтез на пептиди включващи Asn и Gln изхождайки от съответстващите им киселини Glu и Asp, свързани към амиден твърдофазен носител.

Научен принос: Синтезирани са 4 аналога на мембранно проникващи пептиди, като са описани различни подходи за синтез, свързани към амиден твърдофазен носител.

7. Raykova, D.Danalev, **D.Marinkova**, L.Yotova, S.Tchaoushev, N. Mahmoud, Kinetic investigations on amide analogues of isoform 3 of antistasin, *Peptides, Proceedings of the 32th European Peptide Symposium*, 2012, 454-455;

Резюме

Каскадната реакция на кръвосъсирването играе решаваща роля в човешката хомеостаза. В този процес ключова роля изпълняват две серинови протеинази – тромбин и фактор Ха. Следователно те са основни в процеса на разработване на нови лекарства за профилактика и лечение на хемостатични нарушения. Едни от най-силните природни антикоагуланти, изолирани от кръвосмучещи животни са открити и в слюнката на различни видове

пиявици. Антистазинът е един от най-мощните антикоагуланти открити през 1987 г. от Tuszynski и др. [1]. В наши предишни изследвания ние съобщаваме за синтезирането на хибридни структури между антистазин изоформа 2 и 3 и различни трипептидни последователности, които са добре известни серин-протеиназни инхибитори [2]. Тук ние докладваме за кинетичните изследвания на новосинтезирани амидни аналози на изоформа 3 на антистазин.

Научен принос: Изследвани са кинетичните параметри на новосинтезирани амидни аналози на изоформа 3 на антистазин. Установено е, че природния антистазин е конкурентен инхибитор, неговите С-крайни изоформи под формата на свободни киселини проявяват псевдоконкурентен тип инхибиране, а амидните аналози - неконкурентен тип инхибиране.

Основни резултати и научни приноси в направление V. Приложение на научна публикация с педагогическа насоченост;

1. V. Kolarski, **D. Marinkova**, R. Raykova, D. Danalev, S. Terzieva, BILINGUAL COURSE IN BIOTECHNOLOGY: INTERDISCIPLINARY MODEL, Bulgarian Journal of Science Education Volume 24 Number 4, 2015, **IF – 0.21**

Резюме

Изискванията за очакваните резултати от проучване са ясно определени в Европейската квалификационна рамка (ЕКР) и Националната квалификационна рамка (НКР). Комуникативни умения, включително и общуването на английски език, са основно изискване за всички професии. Тук, ние докладваме за създаването на нов модел за двуезично обучение в сферата на инженерството. Този модел се прилага успешно в областта на образованието по биотехнологии. Нашият експеримент показва, че интердисциплинарните модули дават възможност съответните предмети да се реализират значително сред студентите.

Научен принос: В представената публикация принос е създаването на нов модел за двуезично обучение в сферата на инженерството. Докладвано е успешното приложение на интердисциплинарните модули с възможност за съответните предмети да се реализират значително сред студентите.