

НАУЧЕН КОЛОКВИУМ

на Медицински факултет, Факултет по обществено здраве и здравни грижи и
Медицински колеж



ПРОЕКТ №НИХ-509/2024 „ИЗСЛЕДВАНЕ НА АНТИОКСИДАНТНИЯ И ПРОТИВОВЪЗПАЛИТЕЛНИЯ ПОТЕНЦИАЛ НА БИЛКОВИ ЕКСТРАКТИ ВЪРХУ ЧОВЕШКИ НЕУТРОФИЛИ“

Ръководител: доц. д-р инж. Йордан Николаев Георгиев

Катедра: „Химия, биохимия, биология и микробиология“

Медицински факултет при Бургаски държавен университет „Проф. д-р Асен Златаров“

Продължителност: 2 години

ОТЧЕТ НА ЕТАП 2 (ВТОРА ГОДИНА - 14.05.2025 г. – 24.11.2025 г.)

11.12.2025 г. (Бургас)

Изследователски екип на проекта и развитие на кадрите

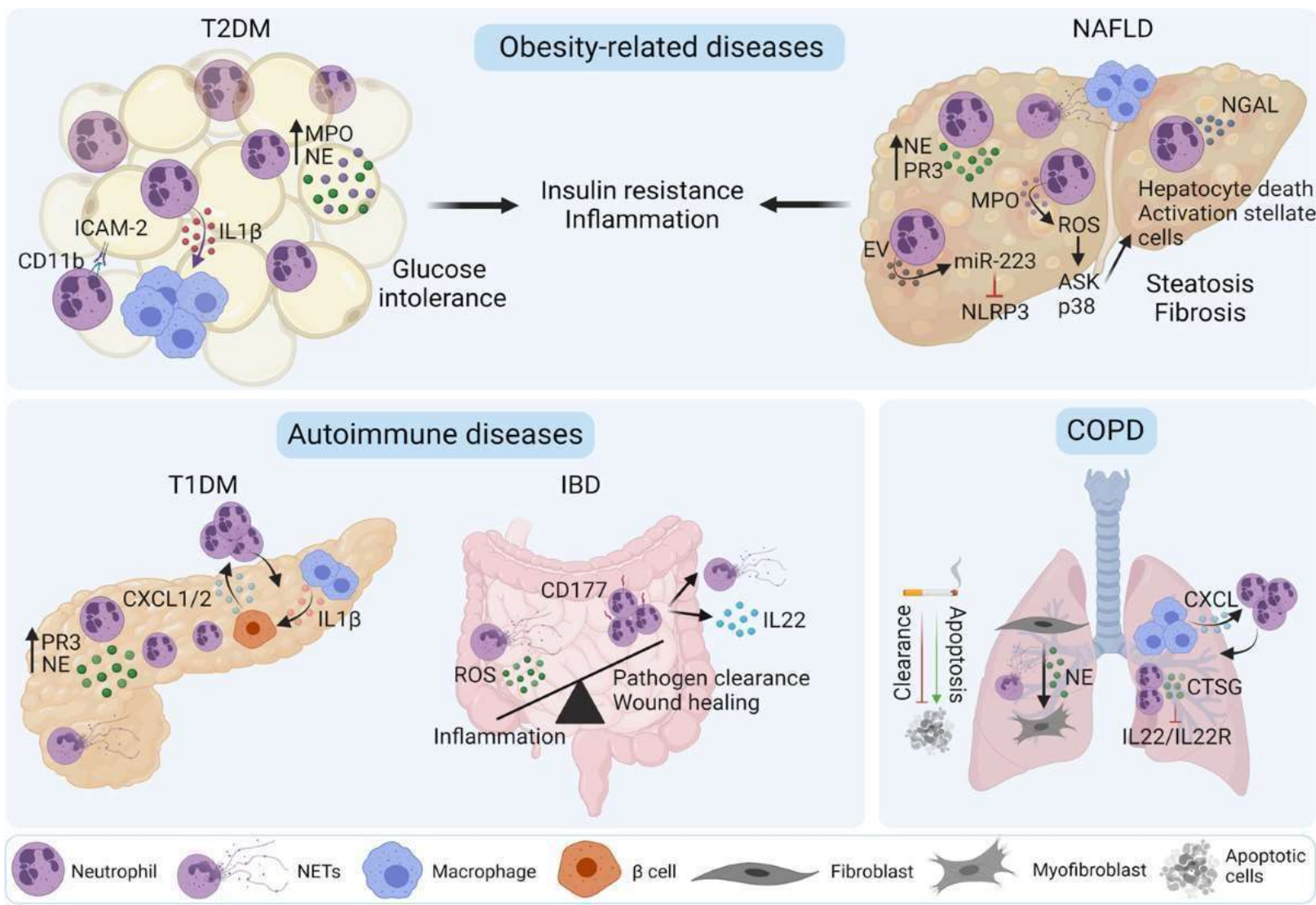
Състав:

- доц. д-р инж. Йордан Георгиев (ръководител) (Медицински факултет)
- доц. д-р Марияна Йорданова-Василева, дм (Медицински факултет)
- доц. д-р инж. Хюсеин Йеменджиєв (Факултет по технически науки)
- гл. ас. д-р инж. Марина Янева (Медицински факултет)
- ас. Милена Василева, дм (Медицински факултет)
- ас. маг. инж. Виктория Смилкова (**млад учен**, Медицински факултет)
- Любомир Лалев (**студент, спец. „Медицина“ VI-ти курс**) (Медицински факултет)
- Марио Христов (**студент, спец. „Медицина“, V-ти курс**) (Медицински факултет)
- Кирил Вълканов (**млад учен и докторант**) (Биологически факултет, Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“)
- Александра Николова (студент, Медицински факултет, Софийски университет „Св. Климент Охридски“, официално не фигурира в екипа)



На основата на планираната и проведената експериментална работа, участието на научни форуми и публикуването на научните резултати, ще се спомогне за научното развитие на младите учени от екипа на проекта. Това в частност е особено важно за бъдещото зачисляване като докторант на ас. Виктория Смилкова и за повишаване на научната квалификация на гл. ас. д-р Марина Янева, и тясното специализиране на колегите в научна проблематика, която е свързана с медицинската биохимия. На базата на получените резултати от проекта като обекти на търсене на противовъзпалителни молекули в бъдещата докторска работа на ас. Смилкова ще бъдат изследвани кървавичето и памуклийката. Включването на студентите Любомир Лалев и Марио Христов в част от експерименталните задачи и участията на местно ниво в някои от научните форуми ще спомогне за обогатяването на познанията им в областта на експерименталната биохимия, етнофармакологията и нутрициологията, както и за подобряване на организационните и комуникационните им умения, които са изключително важни за успешното реализиране на бъдещите лекари.

ВЪВЕДЕНИЕ: Роля на неутрофилите при хронични възпалителни заболявания



➤ За да се разработят успешни терапии срещу възпалителните заболявания, е необходимо да има цялостно разбиране на молекулните механизми на предизвиканото нарушение в имунната система на пациента.

➤ Необходим е фокус върху модулирането на оксидативния взрив чрез регулиране на секрецията на възпалителни цитокини и активността на ензими, които функционират във фагоцитни имунокомпетентни клетки, като NADPH оксидаза, миелопероксидаза (индуцируема циклооксигеназа (COX 2), липоксигенази и еластаза.

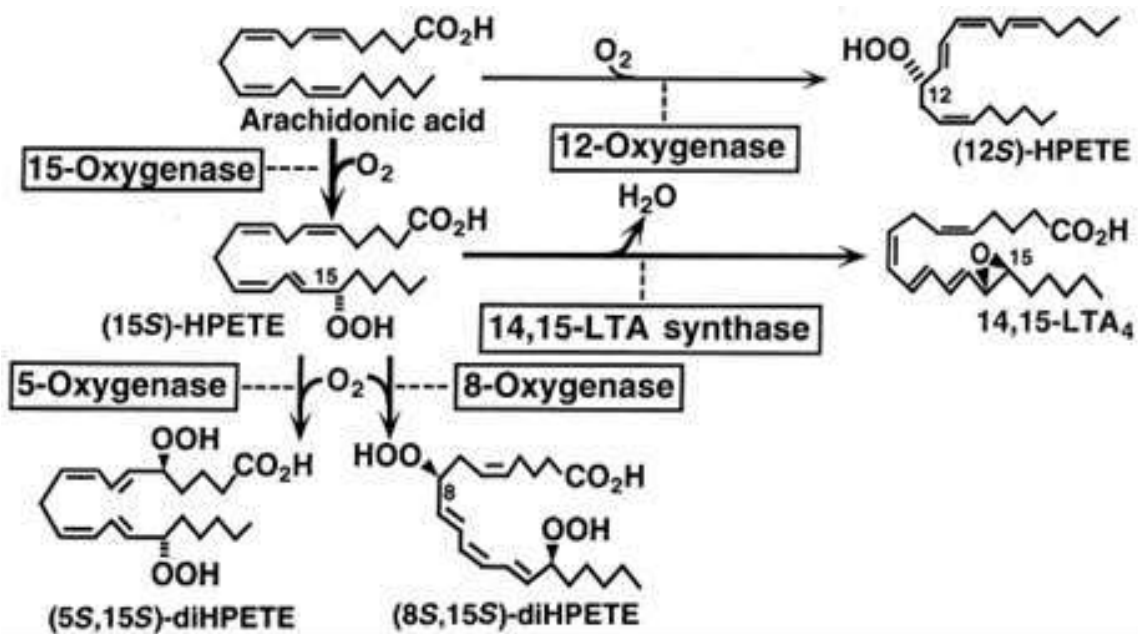
➤ Превръщането на полиненаситени мастни киселини в левкотриени, използвайки някои липоксигенази, последвано от сигнализация чрез левкотриенови рецептори, е допринесло за развитието на астма, atopичен дерматит, псориазис, атеросклероза, артрит, затлъстяване, рак и свързана с възрастта макулна дегенерация.

Фиг. 1. Участие на неутрофилите при развитието на хронични заболявания. Източник: Herrero-Cervera et al. (2022)

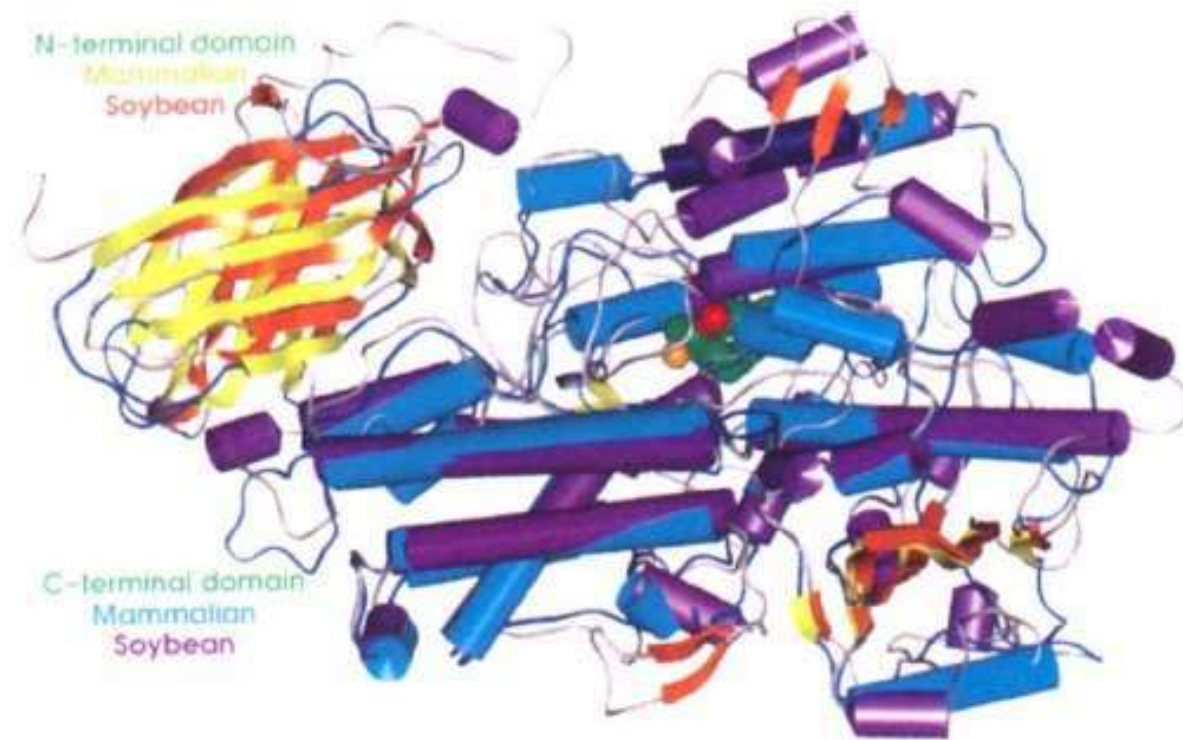
ВЪВЕДЕНИЕ: Роля на липоксигеназите при възпалителния отговор

Липоксигеназите (EC 1.13.11.-) (LOX) са семейство нехемови желязосъдържащи оксидоредуктази, повечето от които катализират диоксигенирането на полиненаситени мастни киселини (напр. арахидонова киселина) в липидите. Те катализират вмъкването на кислороден атом в позиции 5, 12 и 15 на различни 20-въглеродни полиненаситени мастни киселини.

В неутрофилите основният път на метаболизма на арахидоновата киселина е чрез 5-LOX.



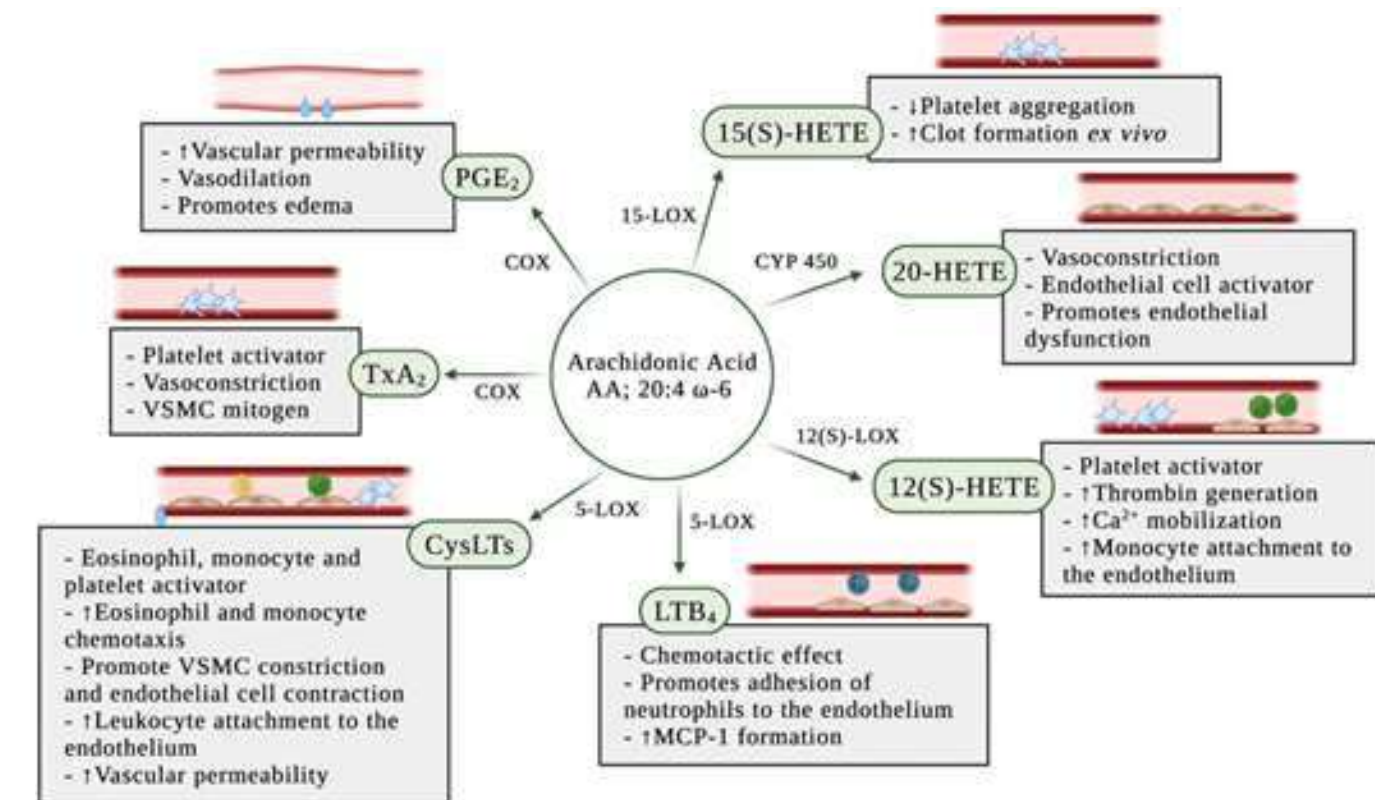
Фиг. 2. Каталитично действие на 5- и 15-липоксигенази. S-енантиомери на 12- и 15-хидроксиеткозатетраенова киселина ((12S)-HPETE) и (15S)-HPETE), 14, 15-левкотриен A₄ (14, 15-LTA₄), 5S,15S- и 8S,15S-дихидропероксиеткозатетраенова киселина (5S, 15S-diHPETE, 8S, 15S-diHPETE). Източник: Yamamoto, 1999



Фиг. 3. Сравнение между структурите на човешка и растителна 15-липоксигеназа. β -листите в соевия ензим са оцветени в оранжево, а α -спиралите в лилаво. Двете структури са насложени, използвайки консервативните елементи във вторичната структура на каталитичния домен. Източник: Gillmor et al. (1997)

ВЪВЕДЕНИЕ: Роля на липоксигеназите при възпалителния отговор

В неутрофилите се експресира 15-LOX-2, която катализира образуването на липоксини, резолвини и протектини. Тези метаболити модулират по-нататъшното възпаление, като потискат производството на супероксидни аниони и влияят върху хемокиновите сигнали. Те играят роля в елиминирането на гъбичните инфекции и възстановяването на тъканите, но могат също да предизвикат ранни провъзпалителни сигнали.



Третирането на неутрофили с линолова, дихомо-γ-линоленова киселина, арахидонова киселина, ейкозапентаенова киселина, докозахексаенова киселина и арахидонил-етаноламид води до синтеза на 13-HODE, 15-HETrE, 15-HETE, 15-HEPE, 14-HDHA/17-HDHA и 15-хидрокси-АЕА (Archambault et al., 2018).

Фиг. 4. Провъзпалителни ефекти на ейкозаноидите в кръвта и съдовата стена. AA: арахидонова киселина; COX: циклооксигеназа; CYP450: P450 цитохром епоксигеназа; CysLTs: цистеинил левкотриени; LTB₄: левкотриен B₄; MCP-1: моноцитен хемоатрактантен протеин-1; PGE₂: простагландин E₂; TxA₂: тромбоксан A₂; VSMC: съдова гладкомускулна клетка; 5-LOX: 5-липоксигеназа; 12(S)-LOX: 12(S)-липоксигеназа; 12(S)-HETE: 12(S)-хидроksиейкозатетраенова киселина; 15-LOX: 15-липоксигеназа; 15(S)-HETE: 15(S)-хидроksиейкозатетраенова киселина; 20-HETE: 20-хидроksиейкозатетраенова киселина. Източник: Yamaguchi et al., 2022

Хипотеза, цел и задачи на настоящото изследване:

Хипотеза: Природните антиоксидантни съединения, изолирани от лечебни растения, обикновено се характеризират с по-малко нежелани странични ефекти от терапевтичните синтетични 5-липоксигеназни инхибитори (напр. zileuton, ziflo, натриев меклофенамат), използвани за лечение на астма, алергичен ринит, остеоартрит, бъбречни заболявания, възпалителни заболявания на червата и др.

Следователно, целта на настоящото изследване беше да се определят фитохимичният състав, *in vitro* антиоксидантната активност и потискащите ефекти върху липоксигеназа на избрани лиофилизирани билкови екстракти.

Задачи:

1. Подбор на лечебни растения с документиран противовъзпалителни ефекти в етнофармакологията;
2. Приготвяне на лиофилизирани водни и 70% етанолови билкови екстракти;
3. Анализ на фитохимичния състав на билковите екстракти;
4. Оценка на *in vitro* антиоксидантната активност на всички билкови екстракти;
5. Изследване на *in vitro* антилипоксигеназната активност на билковите екстракти;
6. Подбор на активни проби с идентифицирани биоактивни метаболити за тестване на техните *ex vivo* противовъзпалителни ефекти върху фагоцити от човешка кръв и изолирани неутрофили, предварително третиран с възпалителни агенти;
7. Разработване на многокомпонентен билков екстракт с антиоксидантни и противовъзпалителни ефекти. (основна цел на целия проект)

Основни задачи за двата етапа на проекта:

1. Получаване на водни и водно-алкохолни лиофилизирани билкови екстракти от традиционни и ендемитни български лечебни растения; **(изпълнено)**
2. Провеждане на обща фитохимична характеристика на получените екстракти; (почти изпълнено)
3. Определяне на фенолния състав на билковите екстракти чрез HPLC-MS; **(изпълнено)**
4. Оценяване на биологичната активност на получените екстракти в *in vitro* моделни системи за определяне на антиоксидантна активност, и потискане на действието на ензими със значение за метаболизма (α -амилаза) и функционирането на фагоцитиращите левкоцити (индуцируема циклооксигеназа-2, 15-липоксигеназа и еластаза); **(частично изпълнено)**
5. Изучаване на връзката структура-биологична активност чрез изолиране на съединения от избрани активни лечебни растения и определяне на техния принос за биологичната активност на изходния екстракт; **(изпълнено само за полизахаридите през етап 1)**
6. Изследване на антиоксидантната и противовъзпалителната активност на избрани активни билкови екстракти и изолирани техни съединения в *ex vivo* моделна система на човешки полиморфонуклеарни левкоцити (неутрофили), изолирани от периферна кръв на здрави доброволци; **(предстои изпълнение)**
7. Изследване на инхибиращия ефект на избрани активни екстракти или техни изолирани съединения върху слюнчена α -амилаза при пациенти със захарен диабет в различни възрастови категории; **(предстои изпълнение в сътрудничество с лекари)**
8. Разработване на смесени билкови екстракти с антиоксидантно и имуномодулиращо действие с противовъзпалителен потенциал; **(частично изпълнено)**
9. Участие на научни форуми в страната и чужбина **(изпълнено)**
10. Подаване на два ръкописа (обзорна статия и експериментална статия за рецензиране и публикуване в чуждестранни списания с импакт фактор. **(в процес на подготвяне)**

Материали и методи

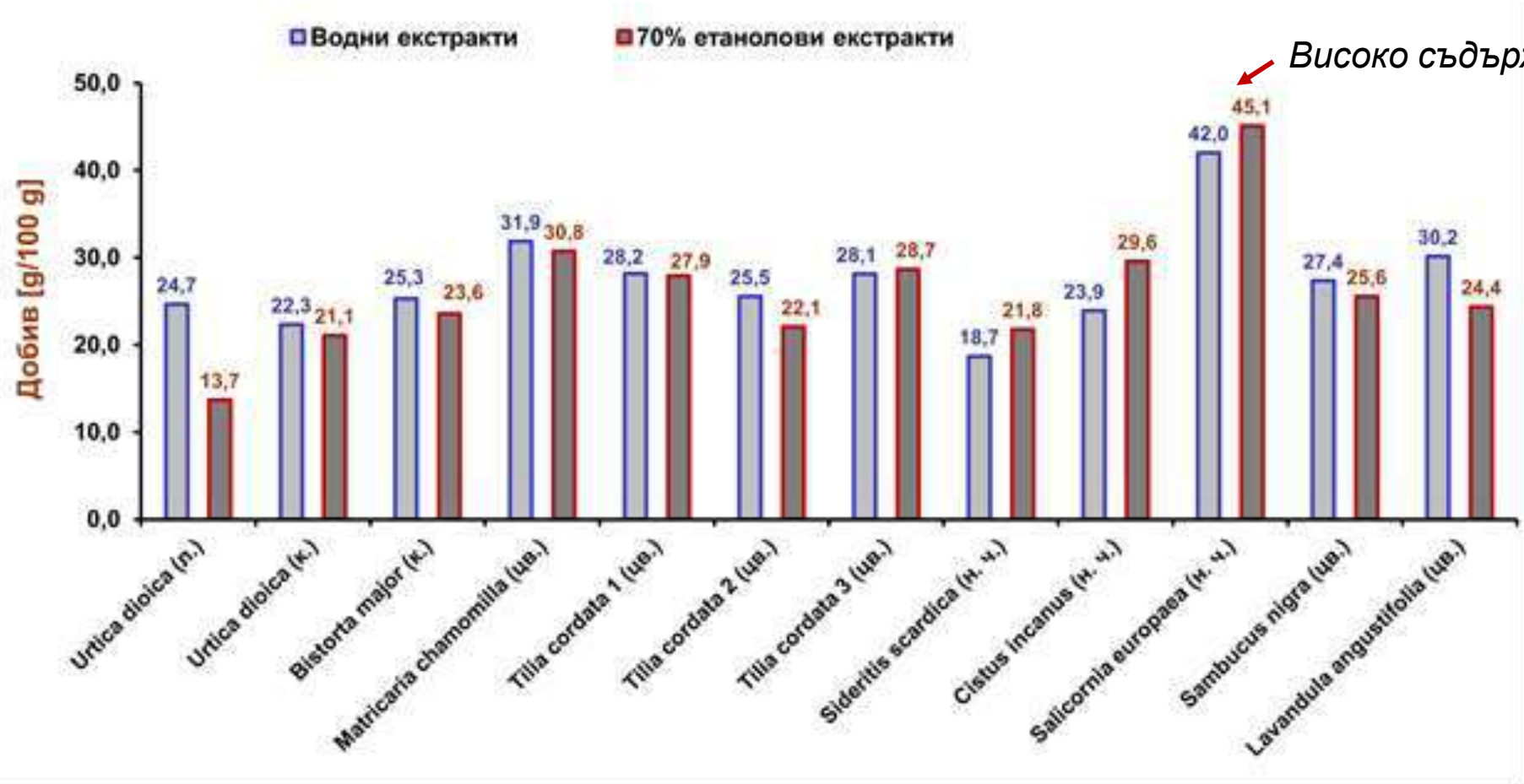
1. Приготвяне на лиофилизирани водни (кипяща вода, 30 мин) и 70% етанолови (48 ч) екстракти (1:30, билков материал:екстракт) от следните традиционни и ендемични лечебни растения *Tilia cordata* Mill. (цветове, събрани на три различни места в Бургас), *Lavandula angustifolia* Mill. (цветове, събрани в с. Светлина, област Бургас), *Matricaria chamomilla* L. (цветове), *Urtica dioica* L. (листа и коренища), *Sideritis scardica* Griseb. (GR-Bio-01, стъбла, гръцки произход, балкански ендемит), *Salicornia europaea* L. (стъбла, събрани в биосферния резерват Атанасовско езеро, гр. Бургас), *Sambucus nigra* L. (цветове), *Bistorta major* S. F. Gray (коренища, събрани в Равногор, област Пазарджик) и *Cistus incanus* L. (стъбла, странджански ендемит).
2. Определяне на **общото съдържание на феноли**, съгласно Singleton & Rossi (1965), използвайки галова киселина като стандарт [**mg GAE/g екстракт**].
3. Определяне на **общото съдържание на флавоноиди**, съгласно Chang et al. (2002), използвайки кверцетин като стандарт [**mg QE/g екстракт**].
4. Определяне на **общото съдържание на танини**, съгласно Sarneckis et al. (2006), с използване на танинова киселина като стандарт [**mg TAE/g екстракт**] (за част от екстрактите)
5. Определяне на **фенолния метаболитен профил** на билковите екстракти чрез LC-ESI-MS/MS, съгласно Olech et al. (2020) [**ng/mg екстракт**].
6. Определяне на **in vitro** антиоксидантната активност, използвайки методите с CUPRAC и ABTS, както е описано от Арак et al. (2004) и Re et al. (1999), а Trolox® служи като стандарт [**μmol TE/g екстракт**].
7. Определяне на **in vitro** антилипоксигеназна активност (*Glycine max* L., Type I-B, 15-LOX, EC 1.13.11.12) при субстрат линолова киселина, съгласно Leelaprakash & Dass (2011), и използване на индометацин като положителна контрола [**процентно инхибиране при 71,4 μg екстракт/mL реакционна среда**].

Резултати: Приготвяне на водни и водно-етанолови лиофилизирани билкови екстракти

Българската промишленост генерира значими странични (отпадни) продукти от *M. chamomilla*, *T. cordata*, *U. dioica* и *L. angustifolia* за използване във вторични продукти с добавена стойност.

Водни екстракти: 18.7 - 42.0% (w/w)

70% етанолови екстракти: 13.7 - 45.1% (w/w)



Високо съдържание на NaCl



Salicornia europaea L.

Фиг. 5. Добив [g/100 g] на лиофилизирани водни и водно-алкохолни (70%, v/v етанол) екстракти, получени от различни изсушени лечебни растения. Съкращения: л. (листа); к. (коренища); цв. (цветове) и н. ч. (надземна част)

Резултати: Фитохимична характеристика на водни и 70% етанолови билкови екстракти

Липовият цвят (*Tilia cordata* Mill.) е събран в пряно състояние през юни 2024 г. от 3 различни места в град Бургас - пред блок 52 в жилищен комплекс Лазур (проба 1), бул. „Демокрация“ срещу ОУ „Васил Априлов“ - Бургас (проба 2) и в Морската градина (проба 3) срещу Дино парк (увеселителен парк).

Уравнение за количествено определяне на общото фенолно съдържание: $y=0,005313x+0,015399$; $R^2 = 0,999122$



Cistus incanus L.



Bistorta major
S. F. Gray



Фиг. 6. Общо фенолно съдържание [mg GAE/100 mg екстракт] в лиофилизирани водни и 70% етанолови екстракти, получени от различни лечебни растения. GAE (еквиваленти на галова киселина). Съкращения: л. (листа); к. (коренища); цв. (цветове) и н. ч. (надземна част)

Резултати: Общо съдържание на флавоноиди

Уравнение за количествено определяне на общото съдържание на флавоноиди: $y=0,006968x-0,060213$; $R^2 = 0,994643$



Sideritis scardica Griseb.

Фиг. 7. Общо съдържание на флавоноиди [mg QE/g екстракт] в лиофилизирани водни и 70% етанолови екстракти, получени от различни лечебни растения. QE (еквиваленти на кверцетин). Съкращения: л. (листа); к. (коренища); цв. (цветове) и н. ч. (надземна част); н.н. (не е намерено).

Резултати: *In vitro* антиоксидантна активност по CUPRAC метода

Уравнение за количествено определяне на общия антиоксидантен капацитет по CUPRAC: $y=0,3698x+0,0140$; $R^2=0,9986$.

Trolox® е водоразтворим синтетичен аналог на витамин Е.

CUPRAC (от англ. Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity)

CUPRAC антиоксидантната активност се отнася до измерването на антиоксидантния капацитет на пробата да редуцира медни(II) йони.



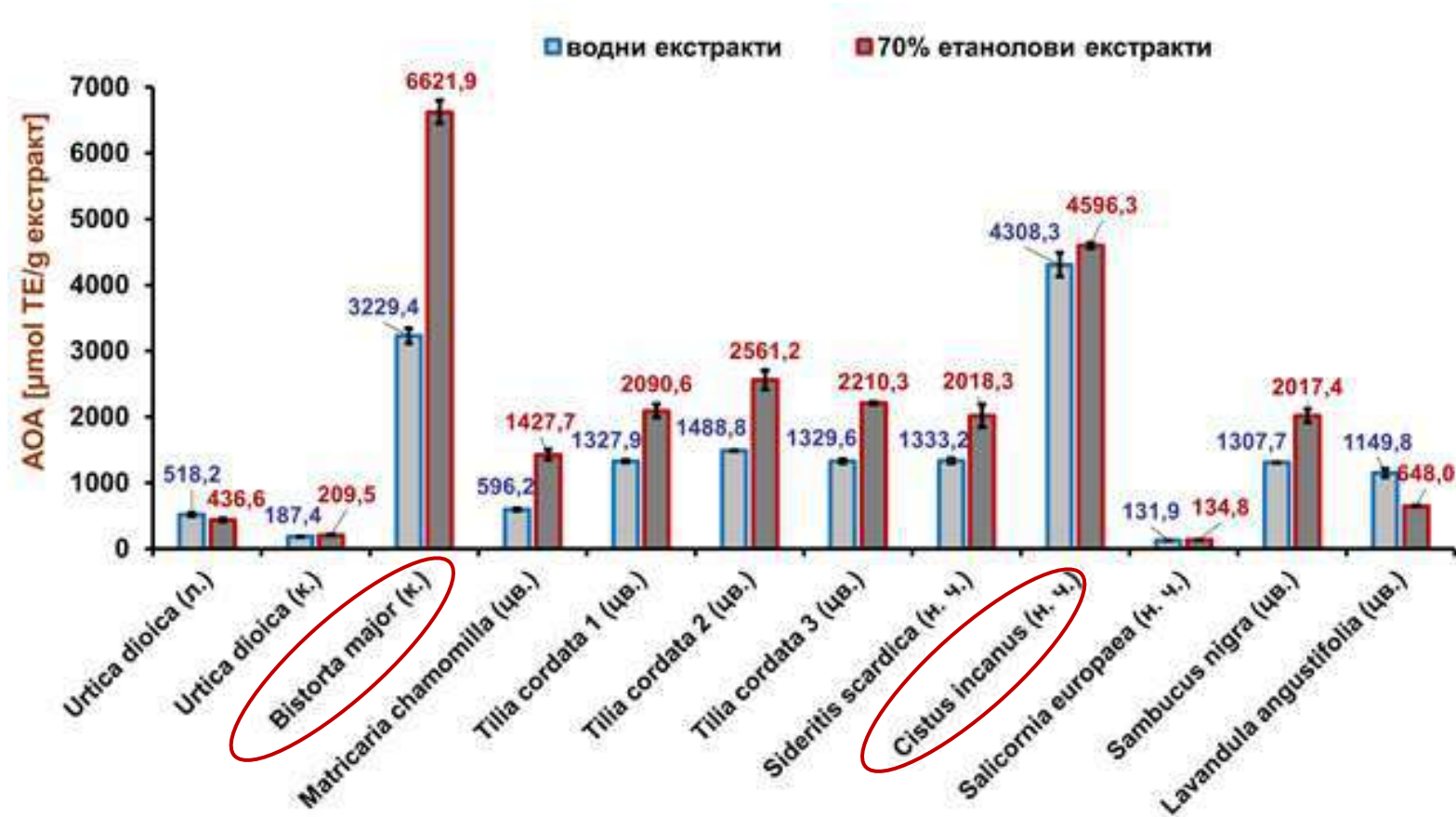
Фиг. 8. Общ антиоксидантен капацитет [TE/100 г екстракт], определен чрез метода CUPRAC на лиофилизирани водни и 70% етанолови екстракти, получени от различни лечебни растения. Съкращения: TE (еквиваленти на тролокс); л. (листа); к. (коренища); цв. (цветове) и н. ч. (надземна част)

Резултати: *In vitro* антиоксидантна активност по ABTS метода

Уравнение за количествено определяне на общия антиоксидантен капацитет по ABTS:
 $y=1,0259x-0,0071$; $R^2=0,9995$.

ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))

ABTS методът е често срещан метод за измерване на антиоксидантната активност чрез количествено определяне на способността на пробата да неутрализира синьо-зеления ABTS катионен радикал (ABTS⁺).

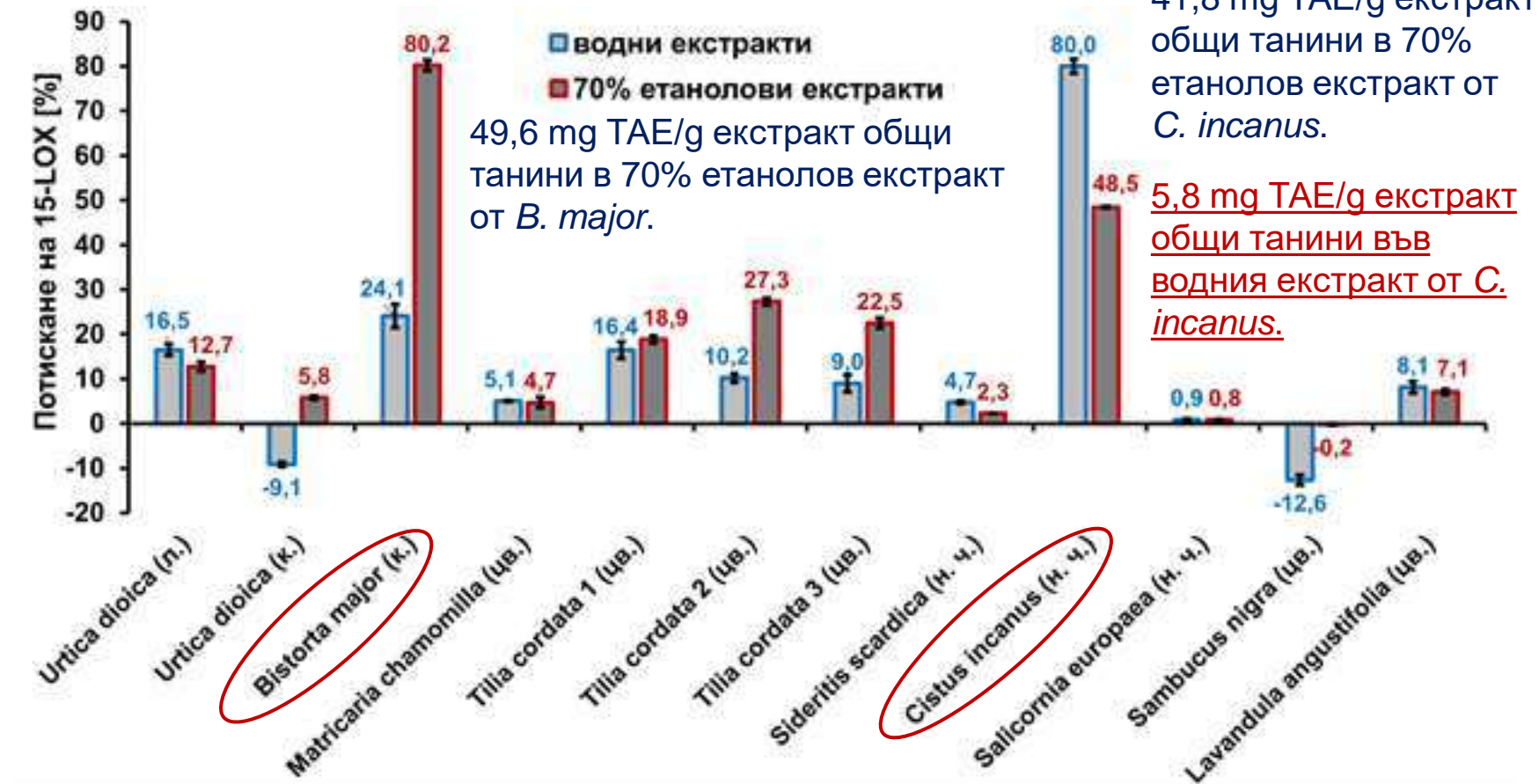


Фиг. 9. Общ антиоксидантен капацитет [TE/100 g екстракт], определен чрез ABTS метода на лиофилизирани водни и 70% етанолови екстракти, получени от различни лечебни растения. Съкращения: TE (еквиваленти на тролокс); л. (листа); к. (коренища); цв. (цветове) и н. ч. (надземна част)

Резултати: *In vitro* инхибиторна активност срещу соева липоксигеназа

Индометацин (положителна контрола): $90,4 \pm 2,9\%$ инхибиторна активност срещу LOX.

70% етаноловият екстракт от *B. major* също инхибира от $49,8 \pm 2,2\%$ до $98,2 \pm 2,4\%$ човешката слюнчена α -амилаза, в концентрационен диапазон от 143 до 714 $\mu\text{g}/\text{mL}$, но не показва инхибиторни ефекти между 29 и 7 $\mu\text{g}/\text{mL}$.



41,8 mg TAE/g екстракт
общи танини в 70%
етанолов екстракт от
C. incanus.

5,8 mg TAE/g екстракт
общи танини във
водния екстракт от *C.*
incanus.

Инхибирането на 15-LOX не се дължи на неспецифичната реакция белтък-танин, а на специфично потискане на ензима с феноли, но и вероятно с нефенолни инхибитори.

15-LOX играе двойна роля във възпалението, действайки както като промотор, така и като инхибитор на възпалителни процеси. Тя превръща полиненаситените ВМК в биоактивни липидни медиатори като 15-хидропероксиейкозатетраенова киселина и 15-хидроксиейкозатетраенова киселина, които могат да имат провъзпалителни ефекти чрез повлияване на функцията на имунните клетки и генната експресия. Подтипът 12/15-LOX е особено важен при възпалителни състояния като астма, сърдечно-съдови заболявания и рак.

Фиг. 10. *In vitro* потискащо действие върху 15-липоксигеназата (15-LOX) [%] на лиофилизирани водни и 70% етанолови екстракти (71,4 $\mu\text{g}/\text{mL}$), получени от различни лечебни растения. Съкращения: л. (листа); к. (коренища); цв. (цветове) и н. ч. (надземна част)

LC-ESI-MS/MS анализ на фенолния състав на екстрактите от *Cistus incanus* L.

Флавоноидите и танините са основните групи фенолни съединения, открити в листата на *C. incanus*. (Pielorz et al., 2022; Wittprahl et al., 2015). Галова и елагова к-ни (Riehle et al., 2013).

Таблица 1. Идентифицирани фенолни съединения [ng/mg±SD, n=3] в екстракти от *Cistus incanus* L.

Фенолни к-ни	BE	70%EtOH
Gallic acid → танини?	2912.6±54.1	2784.3±35.4
Protocatechuic acid	293.0±11.4	502.0±19.7
5-O-Caffeoylquinic acid	14.1±1.0	21.5±0.7
Gentisic acid	39.7±3.3	68.4±2.7
Chlorogenic acid	37.7±1.6	40.9±0.3
4-O-Caffeoylquinic acid	6.2±0.5	0.7±0.0
Salicylic acid	*BQL	BQL
TOTAL	3303.3	3417.8

*Below the quantitation limit but the respective peak is detected.

BE (водни екстракти); 70%EtOH (70% етанолови екстракти)

Флавоноидни агликон	BE	70%EtOH
Catechin	1193.9±45.3	1477.1±5.7
Taxifolin	20.9±1.4	17.6±0.7
Myricetin	386.7±3.9	1954.3±103.9
Eriodictyol	3.3±0.2	4.3±0.2
Quercetin	119.7±4.8	904.6±32.8
3-O-methylquercetin	1.7±0.0	13.9±0.1
Kaempferol	BQL	65.2±2.9
Isorhamnetin	BQL	13.7±0.5
Isokaepferide	26.6±1.9	102.7±1.9
Sakuranetin	23.9±1.3	86.1±2.2
Prunetin	13.2±1.2	59.7±0.7
Apigenin	9.9±0.7	60.3±1.3
Rhamnetin	BQL	BQL
TOTAL	1799.8	4759.5

Има литературни данни за инхибирането на LOX от галова киселина (Alshawush et al. (2022), протокатехинова киселина, кверцетин (Borbulevych et al., 2004), кемпферол (Sroka et al., 2017), рамнетин, ериодиктиол и др.

LC-ESI-MS/MS анализ на фенолните съединения в 70% етанолов екстракт от *B. major*

Въпреки че идентифицираните фенолни съединения представляват незначително количество от фитохимичния състав на пробата, беше предположено, че някои от тях биха могли да участват в инхибиторната активност на LOX на целия екстракт.

Таблица 2. Идентифицирани съединения в 70% етанолов екстракт [ng/mg] от *B. major*

Фенолни киселини	ng/mg	Флавоноидни аглиconi	ng/mg	Флавоноидн и гликозиди	ng/mg
Gallic acid	3462.1±37.5	Catechin	8382.8±204.0	Vitexin/ isovitexin	BQL
5-O-Caffeoylquinic acid	19.4±0.7	Taxifolin	18.3±0.4	Hyperoside	40.5±0.7
Protocatechuic acid	105.6±5.1	Apigenin	BQL	Isoquercetin	14.4±0.2
4-O-Caffeoylquinic acid	84.3±3.3	Quercetin	8.7±0.4	Quercitrin	8.5±0.3
Chlorogenic acid	4260.7±151.6	3- <i>o</i> -methylquercetin	BQL	Naringenin 7-glucoside	19.3±0.3
Gentisic acid	1.6±0.1	Dihydromyricetin	28.6±0.9		
Salicylic acid	BQL*	Epigallocatechin gallate (EGCG)	161.4±3.6		
Syringic acid	BQL				

Сao et al. (2020) са демонстрирали, че хлорогеновата киселина може да инхибира LOX и липазата.

*Below the quantitation limit but the respective peak is detected.

Катехинът, хлорогенната и галовата киселина са преобладаващите идентифицирани съединения, представляващи съответно 1,3, 0,7 и 0,5% от лиофилизирания екстракт.

Wang et al. (2016) съобщават, че 70% метанолови екстракти от коренища на *B. major*, получени от 35 различни проби, съдържат главно галова киселина, галоилглюкозиден изомер 1, галоилглюкозиден изомер 2, катехин и хлорогенова киселина.

LC-ESI-MS/MS анализ на фенолните съединения в екстракти от *Tilia cordata*

Феруловата киселина се среща често в клетъчните стени на растенията, осигурявайки структурна подкрепа и защита срещу стрес от околната среда (Khan et al., 2024; Rai & Choure, 2024).

Абиотичен стрес или ботаническа разлика?

Таблица 3. Идентифицирани фенолни съединения [ng/mg±SD, n=3] в екстракти от *Tilia cordata*

Фенолни съединения	BE_1	70%Et_1	BE_2	70%Et_2	BE_3	70%Et_3
Gallic acid	377.6±7.3	432.2±4.8	473.8±5.4	736.0±12.8	339.6±4.3	590.5±4.4
5-O-Caffeoylquinic acid	5.7±0.1	-	BQL	-	9.9±0.1	6.7±0.1
Protocatechuic acid	905.6±20.2	1093.6±35.5	829.1±20.8	1273.3±25.2	1018.8±11.4	1241.3±5.5
Chlorogenic acid	64.9±2.1	84.5±1.2	35,6±1.2	48.1±1.0	67.8±1.3	81.0±1.2
Gentisic acid	22.5±1.0	17.8±1.4	3.8±0.3	3.2±0.1	6.5±0.5	6.8±0.2
p-coumaric acid	648.5±33.7	506.1±8.5	999.0±59.7	902.0±7.6	408.9±12.1	350.5±12.6
Ferulic acid	7062.7±134.8	7005.9±±93.8	8889.0±141.5	10056.7±124.2	5273.9±88.7	5701.6±109.6
Isoferulic acid	BQL	-	BQL	-	BQL	-
Salicylic acid	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Tiliroside	1594.1±77.3	3856.7±151.3	↓ 1009.7±29.1	↓ 3320.0±110	1808.6±34.8	3901.6±100.0
Total	10681.6	12996.8	12240	16339.3	8991	11880

* Below the quantitation limit but the respective peak is detected.

BE (водни екстракти); 70%Et (70% етанолови екстракти)

Изводи и научни приноси от двата етапа на проекта

- ✓ В резултат на практическото изпълнение на настоящия проект бяха получени и частично химически охарактеризирани 24 лиофилизирани водни и 70% етанолови екстракти, приготвени от 9 български традиционни и ендемични лечебни растения.
- ✓ За първи път бяха изследвани структурните особености и биологичната активност на водно- и алкално-екстрахируемите полизахариди от листа и коренища на билката кървавиче. Открито беше, че растението съдържа водоразтворими пектини с високо съдържание на хомогалактуронан и рамногалактуронан тип I, богат на странични вериги от 1,3,5-арабинани, както и алкално-разтворими ксилани и α -глюкани. Полизахаридите притежават пребиотични свойства и потискат биофилм-образуването от патогенни микроорганизми. След синтезиране на фери-производни на водоразтворимите полимери от листата и коренищата се повишава пребиотичната им активност и потискането на биофилм-образуването от патогените, но не се увеличава антиоксидантната активност на гликаните.
- ✓ С най-висока *in vitro* потискаща активност върху човешка слюнчена α -амилаза се откроява 70% етанолов екстракт от коренищата на кървавиче ($IC_{50}=143 \mu\text{g/mL}$), което разширява потенциалното приложение на тази билка и в контрола на захарния диабет. Галовата, хлорогеновата киселини и катехинът са възприети като частично отговорни за потискането на α -амилазата от екстракта.
- ✓ С най-високо съдържание на общи феноли и най-добра *in vitro* антиоксидантна активност по CUPRAC и ABTS методите се характеризират 70% етанолови и водните екстракти от кървавичето и странджанския ендемит памуклийка.
- ✓ С най-висока антилипоксигеназна активност се открояват 70% етанолов екстракт от коренищата на кървавиче и водният екстракт от памуклийката, чиито потискащи ефекти са $80,2 \pm 1,2\%$ и $80,0 \pm 1,6\%$, при концентрация $71,4 \mu\text{g/mL}$, а активността на индометацин (положителна контрола) при $60 \mu\text{g/mL}$ е $90,4 \pm 2,9\%$. Като активни феноли за потискане на липоксигеназата от екстрактите на памуклийката се очертават галовата, протокатеховата киселини, катехинът, мирицетинът и кверцетинът.
- ✓ При изследването на фенолния профил на екстрактите от памуклийка са идентифицирани някои съединения, които не са докладвани в достъпната литература, като прунетин.
- ✓ В резултат на изследването на липов цвят от 3 различни места в гр. Бургас е установено, че общите феноли, феруловата и *p*-кумаровата киселини, както и антиоксидантната активност и липоксигеназа-потискащото действие на екстрактите се повишават в отговор на абиотичен стрес от развитие на растението на замърсено място - централен булевард за движение в града. Тези показатели могат да бъдат използвани като индикатори за замърсяване в модерната градска среда.

Финансов отчет за двете години

Общо получени средства:	18817,89
Общо изразходени средства:	18271,45
Общо неизразходени средства:	546,44

Сумата в червено не беше изразходвана, защото не знаехме, че може да се прехвърли в друго перо за първата година и очаквахме да се начисли в бюджета за втория етап.

Бургаски държавен университет "Проф. д-р Асен Златаров" Научно-изследователска и художествено творческа дейност Финансов отчет за първа година на договор НИХ - 509/2024		
		Изследване на антиоксидантния и противовъзпалителния потенциал на билкови екстракти върху човешки неутрофили
Получени средства: 11817,78 лв Изразходени средства: 11271,45 лв Ръководител: доц. д-р Йордан Георгиев Срок на проекта: 2 години		
№ по ред		Сума
1. Към перо "Дълготрайни материални активи" (над праг за същественост):		
1.1		0,00
		Общо : 0,00
2. Към перо "Други материали и активи" :		
2.1	Спирт	170,30
2.2	Специфичен реактив	1260,00
2.3	Хладилник за съхранение на реактиви	615,99
2.4	Ъглов ротор, реактиви, стъklarия	6318,06
2.5	Водна баня, електромагнитна бъркалка, стативи	1660,32
		Общо : 10024,67
3. Към перо "Програмни продукти и литература":		
		0,00
		Общо : 0,00
4. Към перо "Външни услуги":		
4.1		
		Общо : 0,00
5. Към перо "Такси правоучастия"		
5.1		
		Общо: 0,00
6. Към перо "Командировки":		
6.1		0,00
		Общо : 0,00
7. Към перо "Заплащане на възнаграждения":		
7.1	Заплащане на членовете на екипа	0,00
		Общо : 0,00
8. Към перо "Рецензенти":		
8.1	Заплащане на рецензенти по отчета	65,00
		Общо : 65,00
9. Към перо "Административно/финансово-счетоводно обслужване":		
9.1	10% от стойността на договора	1181,78
		Общо : 1181,78
		Общо извършени разходи по проекта: 11271,45

Бургаски държавен университет "Проф. д-р Асен Златаров" Научно-изследователска и художествено творческа дейност Финансов отчет за втора година на договор НИХ - 509/2024		
		Изследване на антиоксидантния и противовъзпалителния потенциал на билкови екстракти върху човешки неутрофили
Получени средства: 7000,00 лв Изразходени средства: 7000,00 лв Ръководител: доц. д-р Йордан Георгиев Срок на проекта: 2 години		
№ по ред		Сума
1. Към перо "Дълготрайни материални активи" (над праг за същественост):		
1.1		0,00
		Общо : 0,00
2. Към перо "Други материали и активи" :		
2.1	Стъklarия, реактиви и консумативи	3374,10
2.2	Автоматични пипети и др.	1029,52
2.3	Термоблок	828,00
		Общо : 5231,62
3. Към перо "Програмни продукти и литература":		
		0,00
		Общо : 0,00
4. Към перо "Външни услуги":		
4.1	Курьерска услуга	15,58
4.2	Анализ - ЦНИП	500,00
		Общо : 515,58
5. Към перо "Такси правоучастия"		
5.1	Климентови дни 2025	196,00
		Общо: 196,00
6. Към перо "Командировки":		
6.1		291,80
		Общо : 291,80
7. Към перо "Заплащане на възнаграждения":		
7.1	Заплащане на членовете на екипа	0,00
		Общо : 0,00
8. Към перо "Рецензенти":		
8.1	Заплащане на рецензенти по отчета	65,00
		Общо : 65,00
9. Към перо "Административно/финансово-счетоводно обслужване":		
9.1	10% от стойността на договора	700,00
		Общо : 700,00
		Общо извършени разходи по проекта: 7000,00

Участие в научни форуми (втори етап), на които са представени резултатите от проекта:

1. Georgiev, Y., Yaneva, M., Smilkova, V., Yordanova, M., Vasileva, M., Yemendziev, H., Hristov, M., Lalev, L. Modulation of enzymes associated with inflammatory responses by natural compounds isolated from medicinal plants. International Scientific Conference "Black sea – scientific approaches for ecosystem restoration and innovation in the blue economy", 16th - 18th December, Burgas, Bulgaria.
2. Смилкова, В., Огнянов, М., Вели, Ан., Атанасова, Н., Добрева, Л., Симова, Св., Данова, Св., Гонсалвеш, Л., Петрова, А., Василев, Кр. *In vitro* пребиотични и антибактериални свойства на полизахариди от билката кървавиче (*Bistorta major* S. F. Gray). Втора научна сесия за студенти, докторанти и млади научни работници „Медицински науки“. БДУ „Проф. д-р Асен Златаров“, 25.04.2025.
3. Georgiev, Y., Yordanova, M., Yaneva, M., Smilkova, V., Olech, M., Denev, P., Yemendziev, H. *In vitro* antioxidant and modulatory effects of freeze-dried herbal extracts on salivary alpha-amylase and lipoxygenase. International Sustainable Resource Recovery Strategies Towards Zero Waste (FULLRECO4US) Conference. The FHNW University of Applied Sciences and Arts Northwestern Switzerland, 5th-6th May 2025, Basel.
4. Nikolova, A. Inhibition of salivary α -amylase by a *Bistorta major* (S. F. Gray) extract as a therapeutic strategy for the treatment of *Diabetes mellitus*. Regeneron International Science and Engineering Fair, Columbus, Ohio, USA, 11th-17th May 2025.
5. Georgiev, Y., Yordanova, M., Olech, M., Yaneva, M., Smilkova, V. *In vitro* screening of herbal extracts for inhibitory activity on salivary alpha-amylase. Workshop: From Fundamental Science to Applied Transfer of Knowledge and Innovations in Biomedicine. Prof. Dr. Paraskev Stoyanov Medical University of Varna, 30th-31st May 2025.
6. Georgiev, Y., Olech, M., Yaneva, M., Smilkova, V., Yordanova, M., Yemendziev, H., Ognyanov, M., Denev, P. *In vitro* screening of herbal extracts for antioxidant and lipoxygenase inhibitory activities. International Conference on Natural Sciences and Biotechnology – Kliment's Days 2025, Sofia University St. Kliment Ohridski, 6th-7th November 2025.
7. Yaneva, M., Georgiev, Y., Smilkova, V. Revealing the possible beneficial immunomodulatory effects of cyanobacterial polysaccharides. International Conference on Green Technologies and Sustainable Ecosystems, Paisii Hilendarski University of Plovdiv, 6th-7th November 2025.
8. Smilkova, V., Georgiev, Y., Ognyanov, M., Veli, A., Atanasova, N., Dobрева, L., Simova, S. Danova, S., Vasilev, K., Gonsalvesh, L., Yaneva, M., Petrova, A. Chemical characterization and prebiotic effects of *Bistorta major* S. F. Gray polysaccharides, and their Fe(iii) complexes. 1. International Conference on Green Technologies and Sustainable Ecosystems, Paisii Hilendarski University of Plovdiv, 6th-7th November 2025.

Подготвяне на научни публикации по тематиката на проекта

1. "Structural Analysis and *In Vitro* Antioxidant, Prebiotic and Anti-Biofilm Formation Activities of *Bistorta Major* S. F. Gray Polysaccharides, and Their Fe(III) Complexes", с авторски колектив: Viktoriya Smilkova, Yordan Georgiev, Manol Ognyanov, Anife Veli, Nikoleta Atanasova, Lili Dobрева, Svetlana Simova, Svetla Danova, Krasimir Vasilev, Lenia Gonsalvesh, Marina Yaneva and Ani Petrova, в списание Polysaccharides (IF= 5.5, Q1, WOS, 2024, <https://www.mdpi.com/journal/polysaccharides>). (подготвяне на ръкописа)
2. "Revealing the possible beneficial modulatory effects of medically significant immune response by cyanobacterial polysaccharides", с авторски колектив Yordan Georgiev, Marina Yaneva, and Viktoriya Smilkova, която предстои да бъде подадена в научно списание Marine Drugs (IF= 5.4, Q1, WOS, 2024, <https://www.mdpi.com/journal/marinedrugs>) (подготвяне на ръкописа)

Допълнително, в резултат от научните изследвания по проекта през 2025 г. беше подготвено в пълен вид ново проектно предложение с тема: „Изследване на *in vitro* противовъзпалителните ефекти на билкови полизахариди и фенолни антиоксиданти върху миши макрофаги, с ръководител доц. д-р Йордан Георгиев, за конкурс „Научна инфраструктура“ към НИИ, което предстои да бъде подадено отново по друга вътрешноуниверситетска конкурсна проектна сесия, за да бъде възможно обособяването на научна лаборатория по биохимия в Медицински факултет. Това ще спомогне за повишаване на конкурентоспособността на факултета в национален и международен план и ще се създаде по-добра среда за разработване на дисертационни трудове във факултета и повишаване на научната продукция, което е основен документиран от последната акредитационна процедура проблем пред бъдещето на факултета.



БУРГАСКИ ДЪРЖАВЕН
УНИВЕРСИТЕТ

„ПРОФ. Д-Р АСЕН ЗЛАТАРОВ“



„Човек е роден, за да служи на
живота, в името на човека“

(основоположник на
биохимията в България)



Научно сътрудничество по
проекта с доц. д-р Marta Olech
от Медицински университет в
Люблин (Полша).

проф. д-р Иван-Асен Златаров
(04.02.1885 – 22.12.1936 г.)

БЛАГОДАРЯ ВИ ЗА ВНИМАНИЕТО! 😊

FINALIST DIRECTORY

11th - 17th May 2025, Columbus, Ohio, USA

BULGARIA

Sofia, Bulgaria, BG001, Bulgarian Science and Innovation Fair

BEHA002 Towards Transparent Voting Power: An Analysis of Fixed Systems of the Shapley-Shubik and Banzhaf Power Indices

<https://isef.net/project/190839>

Demira Nedeva, 19, Senior, Model High School of Mathematics "Akademik Kiril Popov", Plovdiv, Bulgaria, T: Veselina Karapeeva

MATH005 Squarefullness of Factorial Products of Polynomials

<https://isef.net/project/190838>

Dimana Miroslavova Pramatarova, 18, Junior, Model High School of Mathematics "Akademik Kiril Popov", Plovdiv, Bulgaria, T: Veselina Karapeeva

TMED004 Inhibition of Salivary α -Amylase by a *Bistorta major* (S. F. Gray) Extract as a Therapeutic Strategy for the Treatment of Diabetes Mellitus

<https://isef.net/project/191435>

Aleksandra Chavdarova Nikolova, 19, Senior, High School of Mathematics and Natural Sciences "Acad. Nikola Obreshkov", Burgas, Bulgaria, T: Todorka Volkova

Част от резултатите по проекта бяха представени на два ученически престижни научни форума от Александра Николова (вече студент по медицина):



Aleksandra Chavdarova
Nikolova

AGE 19



15th - 20th
September 2025,
Riga, Latvia