

## Информационе пакет на проект

*Заглавие на проекта*

***„Изследване на адаптогенен потенциал на плодове от *Sambucus ebulus* с оглед използването им като функционална храна“***

финансиран от Фонд „Научни изследвания“, МОН

**„КОНКУРС ЗА ФИНАНСИРАНЕ НА  
ФУНДАМЕНТАЛНИ НАУЧНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ ПО  
ОБЩЕСТВЕНИ ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВА – 2018 г.“**

***Договор № КП-06-ОПР03/13 от 18.12.2018 г.***

<b><i>Наименование на конкурса:</i></b>
Конкурс за финансиране на фундаментални научни изследвания по обществени предизвикателства – 2018 г.
<b><i>Обществено предизвикателство, към което е насочено проектното предложение:</i></b>
Подобряване качеството на живот – храни, здраве, биоразнообразие, опазване на околната среда, градска среда и транспорт и др.
<b><i>Основна научна област/тематично направление, в което проектът кандидатства:</i></b>
Биологически науки
<b><i>Допълнителни научни области/тематични направления при интердисциплинарни проекти:</i></b>
Медицински науки
<b><i>Заглавие на проекта:</i></b>
<b>Изследване на адаптогенен потенциал на плодове от <i>Sambucus ebulus</i> с оглед използването им като функционална храна</b>
<b><i>Вид на планираните фундаментални научни изследвания (фундаментални или приложни):</i></b>
Фундаментални
<b><i>Базова организация:</i></b>
Медицински Университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ - Варна
<b><i>Партньорски организации:</i></b>
Агробиоинститут, София
<b><i>Ръководител на научния колектив (академична длъжност, научна степен, име):</i></b>
Проф. д-р Йоана Димитрова Киселова-Кънева, дб <i>Ръководител на Катедра по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика с Лаборатория по нутригеномика, функционални храни и нутрацевтици</i> <i>Ръководител на научно направление „Хранене и качество на живота“ при Научен център, МУ-Варна</i> <i>Ръководител на научна група „Нутригеномика и персонализирано хранене“ в научно направление „Хранене и качество на живота“ при Научен център, МУ-Варна</i>
<b><i>Адрес за кореспонденция (пощенски, електронен и телефон):</i></b>
Медицински Университет – Варна, Катедра по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика с Лаборатория по нутригеномика, функционални храни и нутрацевтици Бул. Цар Освободител, 84, кабинет 612, Тел: +359896041419; +35952677050/ вЪтр. 3886
<b><i>Сума за изпълнение на проекта:</i></b>
120 000 лв.

## Резюме на проекта

По данни на Световната здравна организация, в световен мащаб около 80% от населението разчита предимно на лечебни растения при профилактика и лечение, като тази тенденция важи не само за страни с хилядолетни традиции във фитомедицината, каквито са Китай и Индия, но и за много високотехнологични държави. Като се има предвид огромното видово разнообразие на растенията, а също така и големият брой идентифицирани съединения с растителен произход, става ясно, че лечебният потенциал на растенията е огромен и все още недостатъчно изследван. Проучването на връзките между съществуващите емпирични данни от народната медицина и механизма на действие на билките се подпомага от развиващите се възможности на съвременните медикобиологични изследвания. Необходимостта от точна научно обоснована информация за действието на лечебните растения става все по-остра и във връзка с рисковете от некомпетентното им използване (Николов, отг. ред., 2007).

Изучаването на молекулните ефекти на лечебните растения и на техни биологично-активни компонент и идентифицирането на нови молекулни таргети на действие е от съществено значение за развитието на науката за храненето, биотехнологията и фармацевцията. Разработването на нови функционални храни и лечебни средства е от значение за решаване на обществени предизвикателства, касаещи подобряване качеството на живот, безопасността на храните и здравето.

Бъзакът (*Sambucus ebulus* L.) е популярна билка в българската народна медицина, позната с антисептичното си, противовъзпалително и диуретично действие. Традиционно се използват различни части – добре узрелите плодове, корени и по-рядко цветове и листа. Добре узрелите плодове се прилагат се във вид на чай, сок, мармалад, вино и сушени плодове. Особено популярно е използването им като имуностимулиращо и имуномодулиращо средство за лечение и профилактика на възпалителни стомашно-чревни заболявания (Димков П., 1979; Kultur S., 2007) и при инфекции на дихателната система през есенно-зимния период. По отношение на фитохимичния състав на плодовете е установено наличието на някои видове полифеноли, органични киселини, вещества с репелентно, инсектицидно и антиоксидантно действие (Pribela et al., 1992; Svetanović et al., 2016; Zahmanov et al. 2015) и др. Въпреки, че има данни за някои активни компоненти и високата антиоксидантна активност на екстракти от плодовете, до момента няма научни доказателства относно ефекта върху различни аспекти на имунния отговор и механизмите на този ефект. Изследвания в търсене на адаптогенни свойства на такива екстракти не са извършвани.

Това изследване има за цел да се установи наличие адаптогенен потенциал на екстракт от плодове на *S. ebulus* с оглед използването му като функционална храна. Това ще се осъществи чрез изследване на промяната в реактивността на изолирани от доброволци периферни мононуклеарни клетки (PBMC) към възпалително *ex vivo* стимулиране с бактериални липополизахариди (LPS). Резултатите ще бъдат обвързани с фитохимичен състав на плодовете и с анализ на клинично-лабораторни и биохимични показатели в плазма.

В резултат ще се идентифицират нови потенциални таргетни молекулни за въздействие чрез богати на полифеноли функционални храни и лечебни средства.

За постигането на тази цел се предвижда изпълнението на следните основни групи задачи: 1) Изследване на фитохимичния състав и *in vitro* антиоксидантна активност на екстракт от плодове на *S. ebulus* съдържащи активни фитохимични комплекси и последващо компютърно моделиране на адаптогенен потенциал на базата на установения фитохимичен състав; 2) Провеждане на интервенция с воден извлек от плодове на *S. ebulus* с цел установяване на ефекта от приема му върху реактивността на изолирани от доброволци РВМС към възпалително *ex vivo* стимулиране с бактериални липополизахариди (LPS) и върху някои клинично-лабораторни и биохимични показатели в плазма.; 3) Анализ и интегриране на резултатите с цел идентифициране наличието на адаптогенно действие на воден извлек от плодове на *S. ebulus*.

В резултат ще се получат данни относно възможен адаптогенен потенциал на изследваната билка с оглед прилагането и като функционална храна.

Целите и задачите по проекта ще бъдат осъществени от интретдисциплинарен научен колектив от специалисти с доказана компетентност в съответните научни области.

За получаване на екстракти от изследвания растителен материал ще бъдат приложени стандартни и иновативни екстракционни процедури и техники. За установяване на фитохимичния състав на екстрактите ще бъдат приложени класически и съвременни спектрофотометрични и хроматографски аналитични техники. Екстрактите ще бъдат характеризирани на база общо съдържание на полифеноли, флавоноиди и антоцианини, *in vitro* антиоксидантна активност и детайлен фитохимичен състав на определени фракции. За получаването на данни за модулиращите ефекти върху изследваните имунологични процеси на екстрактите и фракциите *in vivo* ще се прилагат технологии и методологии на клетъчно и молекулярно ниво с цел да се уловят едновременно множество физиологични промени. Ще бъде приложена съвременна методология от областта на нутригеномиката, включваща класически и най-модерни цитологични и молекулярно биологични методи. Ще бъдат използвани модели на клетъчни култури – *ex vivo* стимулиране с бактериални (LPS) на изолирани от доброволци РВМС с цел провокиране на възпалителен отговор. В тази връзка ще бъде изследвано влиянието на воден извлек от *S. ebulus* върху някои молекулни механизми и клетъчни процеси (възпаление и фагоцитарна активност). Имунологични ELISA методи ще се използват за да се проследи промяната в плазмените нива на възпалителни фактори. Количествен Real-Time RCR ще се приложи за анализ на генна експресия на ниво транскрипция. Western blotting ще се приложи за измерване количеството на интрацелуларни протеини и промяна на генната експресия на ниво белтъчен синтез.

Предвид на гореизложеното, в настоящия проект се очаква да се установят нови причинно-следствени връзки относно биологичните ефекти на екстракти от *S. ebulus* върху различни процеси, като се изследват молекулните ефекти и възможността да се въздейства на ключови молекулни механизми от различни нива на имунния отговор (възпаление и фагоцитоза). Резултатите ще се коментират от гледна точка на възможно адаптогенно действие на билката. От друга страна, резултатите ще допринесат за установяване на приложимостта на плодовете като допълваща и поддържаща терапия при някои остри и хронични заболявания с възпалителна компонента във вид на храни или лечебни средства. Изследванията ще

бъдат предпоставка за разработване на нови функционални храни и лечебни средства.

**Ключови думи:** *Sambucus ebulus*, adaptation, immune response, inflammation, phagocytosis, molecular markers, functional foods

#### Цитирана литература:

1. Димков П. (1979) Българска народна медицина, Т. 1, БАН, София, 677 с
2. Николов С, отг. ред. (2007) Специализирана енциклопедия на лечебните растения в България. Изд. къща Труд, София, 592 с.
3. Cveticanović A, Đurović S, Mašković P, et al. (2016) Zbornik radova, 21 (24), 631-7.
4. Kultur S. (2007) J. Ethnopharmacol, 111, 2, 341-64.
5. Pribela A, Durcanska J, Piry J, et al. (1992) Biologia (Bratislava), 47(3), 225-30.
6. Zahmanov G, Alipeva K, Denev P, et al. (2015) Industrial Crops and Products, 63, 58-64

## Постигнати резултати

1. Получени са нови данни за общото съдържание на основни групи съединения с биологична активност (общи полифеноли, флавоноиди, антоцианини) във воден извлек от плодове на *S. ebulus*.

2. Адаптирани и валидиран е нов за научното звено метод за измерване на съдържание на флавоноиди в растителни екстракти.

3. Получени са данни за антиоксидантната активност на воден извлек от плодове на *S. ebulus*.

4. Разработени са подходящи методи за екстракция на биологично активните вещества в лиофилизираните плодове и водните извлекци от *S. ebulus*. Валидирани са хроматографските методи за анализ (GC-МС и UPLC/МС).

5. Получени са точни и пълни данни за качествения и количествения фитохимичен състав на плодове на *Sambucus ebulus* по отношение на следните групи съединения: фенолни киселини, флаваноли, флавоноли, антоциани, проантоциани, стилбени, аминокиселини, органични киселини и естери, захарни киселини и алкохоли, въглехидрати, наситени и ненаситени мастни киселини.

6. Получени са данни от *in silico* моделиране за възможни молекулни механизми на действие на 5-O-Caffeoylquinic acid, Cyanidin-3-O-Galactoside и L-Epicatechin по отношение на процеси, свързани с имунния отговор.

- Направеното компютърно моделиране показва възможностите за взаимодействие на 5-O-Caffeoylquinic acid, Cyanidin-3-O-Galactoside и L-Epicatechin с ензими от възпалението и фагоцитозата (COX-1, COX-2, LOX-5 и p38 MAP киназа).

- Направена е и прогноза за анти-перитонитна активност и за противовъзпалително действие в модел на карагенан-индуциран оток на лапата на плъх).

- Получени са данни от прогноза за метаболизъм чрез CYP3A4 изоформа на цитохром P450, чрез CYP2D6 изоформата на цитохром P450 и прогноза за вероятност за цитотоксичност на тези съединения. Направено е и моделиране на метаболизма на тези съединения.

7. Успешно осъществена интервенция със здрави доброволци (4 седмичен прием на воден извлек от плодове на бъзак).

- Получени данни за ефекта на 4 седмичен прием на воден извлек от бъзак върху числеността на популациите кръвни клетки във връзка с установяване на евентуален ефект, свързан с имунната защита

- Получени са данни за ефекта 4 седмичен прием воден извлек от бъзак върху концентрациите на следните протеини в серума на доброволците, участвали в изследването: Общ белтък; CRP; IL-1 $\beta$ ; IL-6; TNF- $\alpha$ ; IL-8; C3 и C4;

- Проведени са *in vitro* експерименти за изследване на ефекта на 4 седмичен прием на воден извлек от плодове на *S. ebulus* върху реактивността на изолирани от доброволци РВМС при *ex vivo* стимулиране с бактериални LPS (**Western blotting** и **Real-Time PCR**).

## Публикувани статии

1. Kiselova-Kaneva, Y.; Galunska, B.; Nikolova, M.; Dincheva, I.; Badjakov, I. High resolution LC-MS/MS characterization of polyphenolic composition and evaluation of antioxidant activity of *Sambucus ebulus* fruit tea traditionally used in Bulgaria as a functional food. *Food Chem.* 2022, 367, 130759. (Q1, IF 9.231).

Линк към статията:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814621017659>

2. Kiselova-Kaneva, Y.; Nashar, M.; Roussev, B.; Salim, A.; Hristova, M.; Olczyk, P.; Komosinska-Vassev, K.; Dincheva, I.; Badjakov, I.; Galunska, B.; et al. *Sambucus ebulus* (Elderberry) Fruits Modulate Inflammation and Complement System Activity in Humans. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 8714. <https://doi.org/10.3390/ijms24108714>. (Q1, IF 6.208).

Линк към статията: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/10/8714>



## Публикувани съобщения за проекта

1. На страницата на Медицински Университет – Варна е публикувано съобщение за проекта (<http://mu-varna.bg/BG/Pages/byzaka.aspx>)

2. На страницата на Медицински Университет – Варна е публикувано съобщение за провеждане на интервенцията и за набирането на доброволци (<http://www.mu-varna.bg/BG/Pages/byzak-imunitet.aspx>).

3. Заснет е филм, който да представя проекта, неговите цели и финансиращата организация. Филмът е заснет със съдействието на MuVi TV, телевизионния канал на Медицински Университет – Варна (<https://www.youtube.com/watch?v=6Z0qwCJfd4o&t=18s>).

4. Публикувана информация за проекта, във вестник Лечител. Публикацията дава информация за същността на проекта, предвижданите изследвания и очакваните резултати (<https://www.lechitel.bg/newspaper.php?s=4&b=717>).

5. Във вестник 24 часа е публикувано съобщение за интервенцията  
На сайта на Радио Фокус е публикувано съобщение за набиране на доброволците и за същността на изследването (03.10.2019г.) (<http://focus-radio.net/%d0%bd%d0%b0%d0%b1%d0%b8%d1%80%d0%b0%d1%82-%d0%b4%d0%be%d0%b1%d1%80%d0%be%d0%b2%d0%be%d0%bb%d1%86%d0%b8-%d0%b2%d1%8a%d0%b2-%d0%b2%d0%b0%d1%80%d0%bd%d0%b0-%d0%b7%d0%b0-%d0%bf%d1%80%d0%b5%d0%b4%d1%81/>).

6. На сайта на Медицински Университет – Варна е публикувана информация за представяне на екипа на конференция, където са докладвани резултати от изпълнение на дейностите по проекта, а също така и финансиращата организация (<https://www.mu-varna.bg/BG/Pages/bio-antioksidanti.aspx>).

7. На страницата на Медицински Университет – Варна е публикувана фотогалерия, представяща моменти от работата на екипа по време на интервенцията с доброволците (<https://www.mu-varna.bg/BG/Pages/AlbumImages.aspx?AlbumID=2816c635-17fd-41eb-99f6-24c832561242>).

8. На страницата на Медицински Университет – Варна е публикувано съобщение за финален етап на проекта и някои основни постижения (<https://www.mu-varna.bg/BG/Pages/efekt-na-izvlek-ot-buzak-mu-varna-news.aspx>)

9. Публикувана информация за основните постижения от работата по проекта, във вестник Лечител. Публикацията дава информация за същността на проекта, финансиращата организация и някои научни резултати (<https://www.lechitel.bg/newspaper.php?s=17&b=909>).

10. Информация беше публикувана в социални медии на български и на английски език.

## Други резултати от изпълнението на проекта

### Повишаване на научния капацитет и подготовката на млади учени

**1.1.** Въвеждени са нови методи и технологии и повишаване капацитета на Лабораторията по нутригеномика, функционални храни и нутрацевтици като Университетски център за научни изследвания в областта на нутригеномиката.

**1.2.** Придобити са нови дълготрайни материални активи: система за вертикална електрофореза и трансблот система със собствено захранване, което ще повиши материалния капацитет на базовата организация и ще подобри качеството и ефективността на молекулярно-биологичните анализи.

**1.3.** Повишени са познанията и уменията на младите учени, членове на научния колектив към проекта, свързано с въвеждане, усвояване и стандартизиране на нови препаративни и аналитични техники, биохимични и молекулярно-биологични методи експериментални модели на клетъчни култури, провеждане на итревенции с хора, статистическата обработка на резултатите.

- Катото член на екипа е привлечен **млад учен** – Момчил Тошков Барболов
- В резултат на работата по проекта е обучен един докторант (Миглена Николаева Тодорова) е обучен за работа с течнхроматографска система Acquity PDA/QDa, снабдена с UV детектор с диодна матрица и с мас-селективен детектор с единичен квадрупол, налична като оборудване при Катедтата по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика, Медицински Университет – Варна.
- Докторанти и млади учени са запознати с основните принципи при планиране и дизайн на интервенция със здрави доброволци.
- Докторанти, млади учени и постдокторанти са обучавани за работа с клетъчни култури и осъществяване на експеримент, състоящ се в *ex vivo* стимулиране на периферни мононуклеарни клетки.
- Докторанти, млади учени и постдокторанти са обучавани за работа с някои молекулярно-биологични методи.

**1.4.** Докторанти, млади учени и постдокторанти с запознати с алгоритъма на работа при оформяне на необходимата документация за обявяване н търгове и възлагане на обществени поръчки.

**1.5.** Един главен асистент е запознат и е участвал активно в изготвянето на заявление към комисията по етика на научние изследвания при МУ-Варна.

### Развиване на научно сътрудничество

Реализирано е междуинституционалното сътрудничество и обмен на добри практики, методология и трансфер на знания в областта на фитохимичния анализ, молекулярната, клетъчната биология и нутригеномиката между МУ – Варна и:

- Агробиоинститут - София
- Училище по медико-биологични науки, Южноуралски Държавен Университет, Русия;
- Медицински Университет – Силезия, Училище по фармация с Отдел по лабораторна медицина, Полша;