

РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ
БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
ИНСТИТУТ ПО ОРГАНИЧНА ХИМИЯ С ЦЕНТЪР ПО ФИТОХИМИЯ
КОНКУРС ЗА АКАДЕМИЧНА ДЛЪЖНОСТ „ГЛАВЕН АСИСТЕНТ“

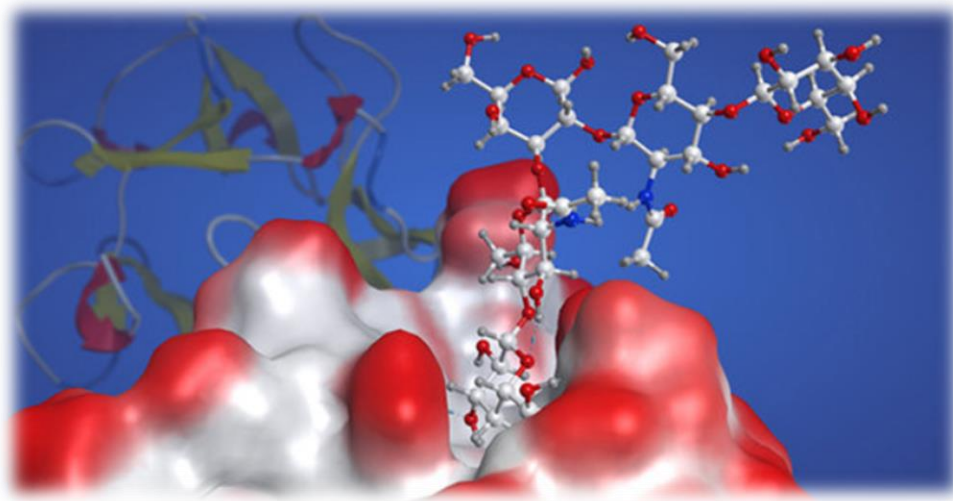
КАНДИДАТ: АС. Д-Р ИНЖ. ЙОРДАН НИКОЛАЕВ ГЕОРГИЕВ

ПРОФЕСИОНАЛНО НАПРАВЛЕНИЕ: 4.2. ХИМИЧЕСКИ НАУКИ

НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ: 01.05.10 „БИООРГАНИЧНА ХИМИЯ, ХИМИЯ НА ПРИРОДНИТЕ И ФИЗИОЛОГИЧНО АКТИВНИТЕ ВЕЩЕСТВА“

Звено: ЛАБОРАТОРИЯ БИОЛОГИЧНО АКТИВНИ ВЕЩЕСТВА - ПЛОВДИВ

ВЪПРОС №2: РОЛЯ НА БИООРГАНИЧНАТА ХИМИЯ ПРИ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА АНТИГЕННИТЕ ЕПИТОПИ В РАСТИТЕЛНИТЕ ПОЛИЗАХАРИДИ ЗА ПРОЯВЛЕНИЕ НА ИМУНОМОДУЛИРАЩА АКТИВНОСТ. БИОХИМИЧНИ ОСНОВИ НА ИМУНОМОДУЛАЦИЯТА С РАСТИТЕЛНИ ПОЛИЗАХАРИДИ.



12 ЮЛИ 2018 Г.

ГР. СОФИЯ

1. Биоорганичната химия като самостоятелна научна дисциплина

Биоорганичната химия е съвременен дял от химията, в който се изучават различните биологични процеси в живите клетки с използването на химични подходи.

Според руския акад. Юрий Оводов (1937-2014 г.) биоорганичната химия е една от най-важните съставни части на физико-химичната биология, която е фундаментална наука за живота.

Основната цел на биоорганичната химия е изучаването на химичната структура, биологичната функция и физиологичната активност на биомолекулите, а също и изучаването на молекулните механизми на различните жизнени процеси.

Приложение: изключително полезна за фармацевтичната химия, хранителната химия, химията на природните съединения (напр. фитохимията), ензимната катализа, биофизичната органична химия, протеиновата химия, белите биотехнологии и др.

Биоорганиците, заедно с биохимиците, биотехнолозите, физиолозите и лекарите непрекъснато получават нови резултати, които спомагат за удължаването на продуктивния човешки живот.

Сред основните дискутирани теми на пленарните доклади на последния международен симпозиум на IUPAC по биоорганична химия (Университета на Констанц в Германия, 2017 г.) се споменава и за изучаването на специфичните взаимодействия между въглехидрати и протеини на клетъчните повърхности, което е и обект на настоящия доклад.

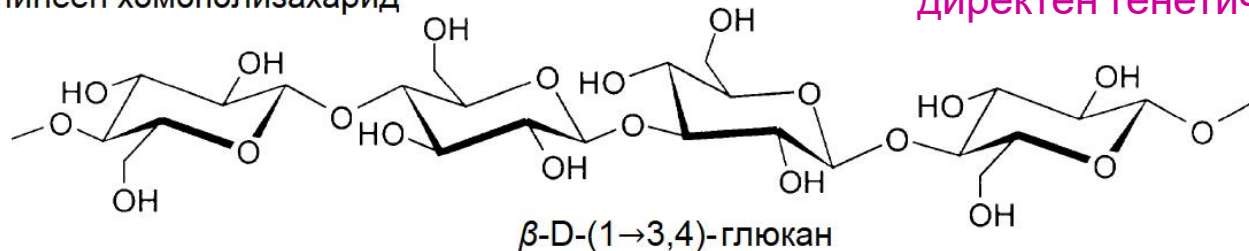
2. Същност и значение на полизахаридите (ПЗ-те)

В химично отношение ПЗ-те са кондензирани полимери, в които монозахаридните единици са свързани заедно чрез О-гликозидни връзки.

За разлика от фосфодиестерната и пептидната връзки при нуклеиновите киселини и белтъците, при ПЗ-те има голямо разнообразие от **стерео-** и **региотипове** на гликозидното свързване: α/β -(1→2; 3; 4; 6).

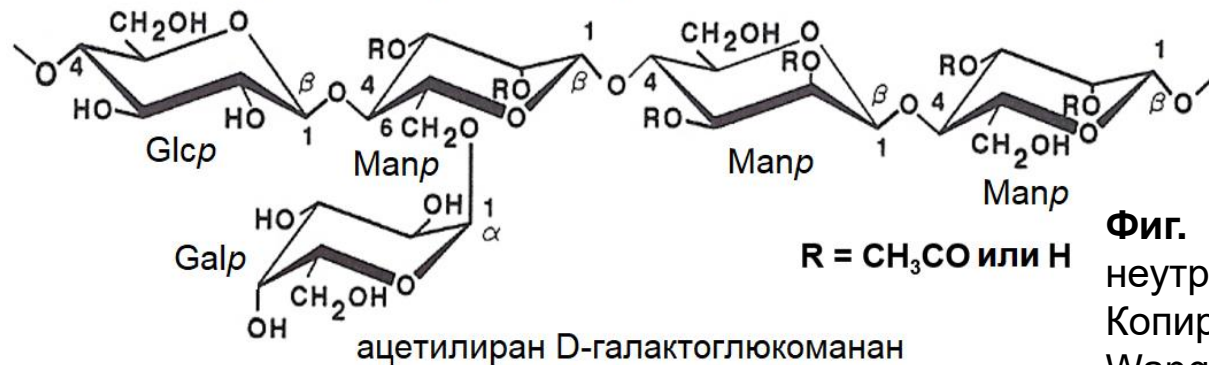
В природата се срещат **линейни** и **разклонени хомо-** и **хетерополизахариди** (напр. кисели и неутрални).

Линеен хомополизахарид



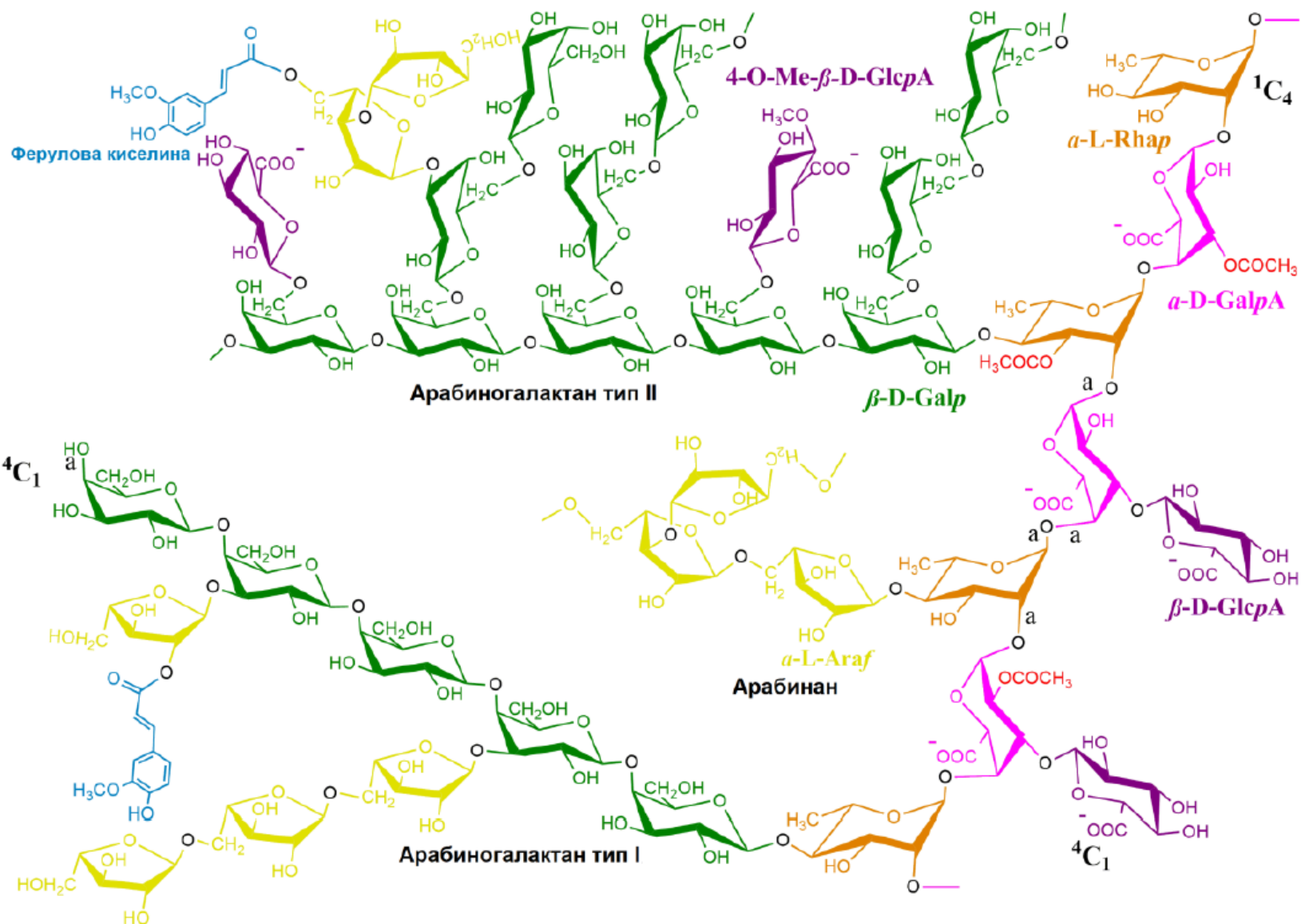
Биосинтезът на ПЗ-те не е под строг и директен генетичен контрол.

Разклонен неутрален хетерополизахарид



Фиг. 1а Примерни структури на неутрални растителни полизахариди. Копирани от Ebringerová et al. (2005) и Wang, D. (лекционен курс).

Разклонен кисел хетерополизахарид

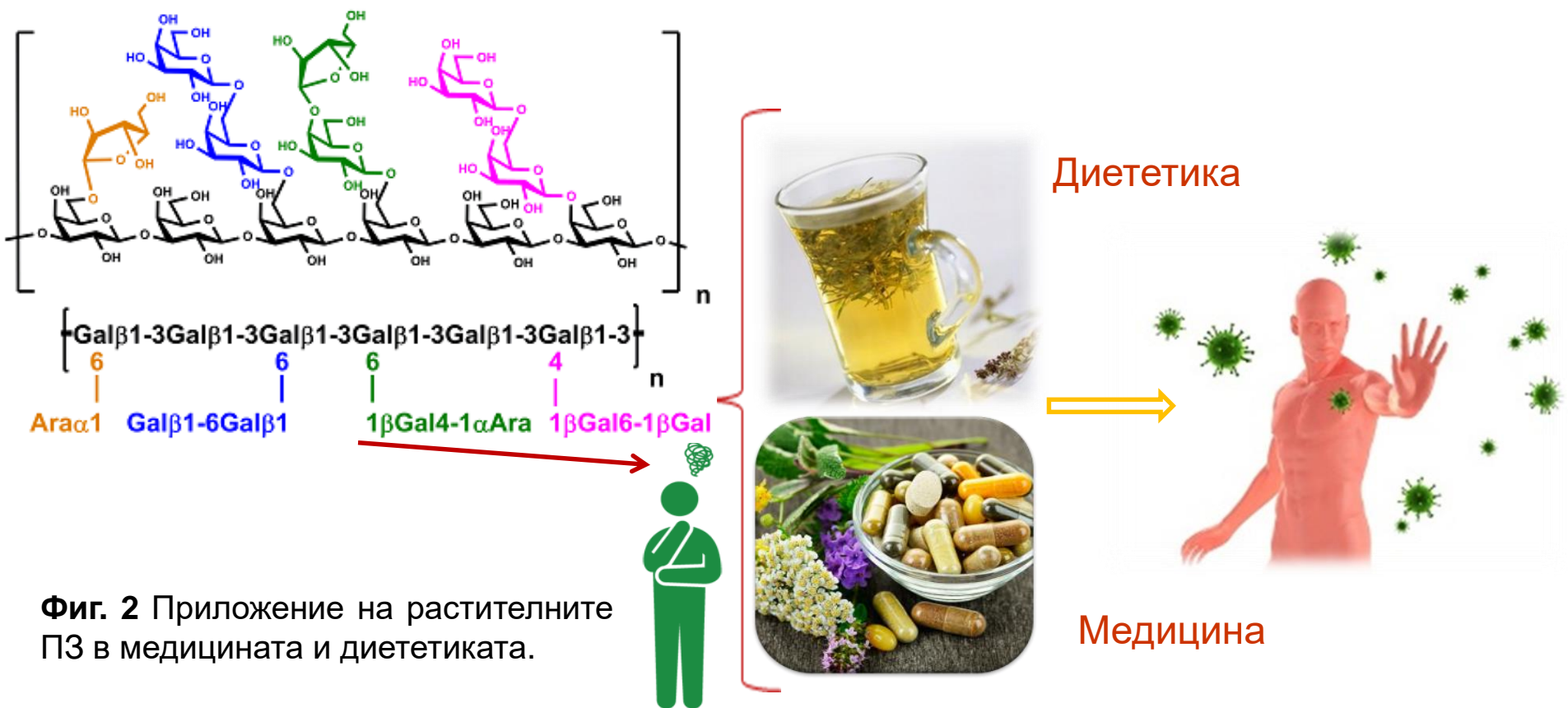


Рамногалактуронан тип I със странични вериги от арабиногалактан тип I и II.

Фиг. 16 Примерна структура на **имунологично активен кисел растителен полизахарид**. Копирано от Georgiev et al. (2018).

ПЗ-те играят редица важни роли в биологията на живите системи, включвайки съхранението на енергия, поддържането на структурата, междуклетъчния контакт и участието в клетъчната сигнална трансдукция.

От практическа гледна точка ПЗ-те (**слузни вещества за фармацевтите** и **хранителни влакнини за диетолозите**) могат да се разглеждат като функционална съставка на нашите храни и напитки, и междувременно да се използват като **технологични добавки в храните** (със **сгъстяващи, емулгиращи, желиращи** и др. свойства).



Фиг. 2 Приложение на растителните ПЗ в медицината и диететиката.

3. Приложение на биоорганичната химия при получаването на имунологично активни растителни ПЗ чрез химично модифициране на тяхната структура

Химичното модифициране на структурата на ПЗ-те може да стане при функционалните групи (-ОН, -СООН, -NH₂ и др.), като то е свързано с образуването на естери, етери, соли и т.н. в зависимост от техния химичен характер.

Най-често прилаганите химични модификации на ПЗ-те са:

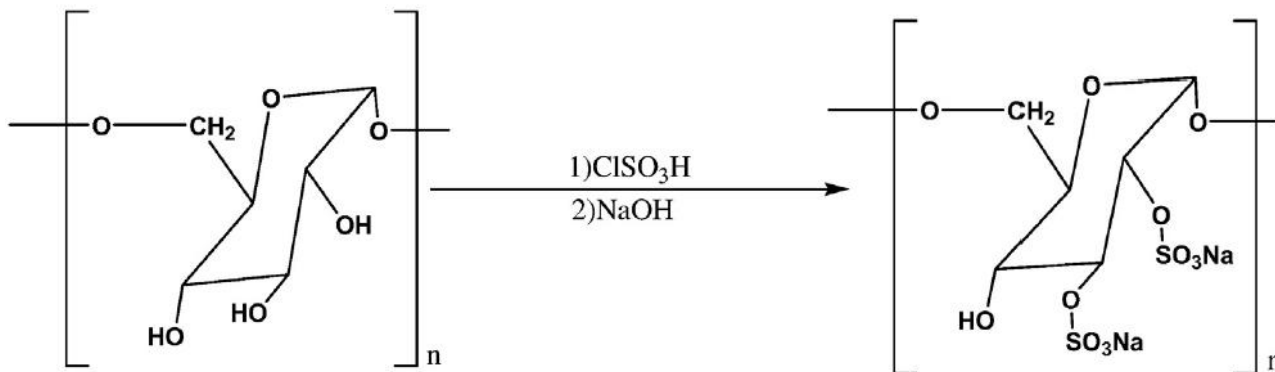
- ❖ **Сулфатиране** (образуване на **-OSO₃H(Na)** група при ОН групите);
- ❖ **Фосфорилиране** (образуване на **-OPO₃H₂(Na)₂** група при ОН групите);
- ❖ **Ацетилиране** (образуване на **-OCOCH₃** група при ОН групите);
- ❖ **Етоксилране** (образуване на **-COOCH₂CH₃** групи при СООН групите);
- ❖ **Амидиране** (образуване на **R-NH-CO-** групи при СООН групите);
- ❖ **Карбоксиметилиране** (образуване на **-OCH₂COOH(Na)** група при ОН групите);
- ❖ **Образуване на комплекси с метални йони** (комплекси с **B, V, Se, Ca** и др.);
- ❖ **Други** (напр. киселинна, алкална деполимеризация, **озониране** и др.).

Химичните модификации на имуномодулиращите ПЗ могат да бъдат използвани и за изучаване на тяхната структура (напр. метилиране, ацетилиране) и за тяхното специфично белязване (с радиоизотопи, внасяне на флуоресциращи групи и т.н.) с цел визуализиране на ефектите им в реално време.

Само след адекватни медицински изследвания би било възможно приложението на химично-модифицираните ПЗ в храненето и лечението на хората и животните!

Пример: 3.1. Химично сулфатиране на растителни полизахариди

В природата сулфатирани ПЗ се срещат в сухоземните животни и във висшите водорасли. По химичен път могат да бъдат получени сулфатирани растителни ПЗ с ценни биологични свойства.



Фиг. 3 Сулфатиране на ПЗ със смес от хлоросулфонова киселина-пиридин. Копирано от Chen & Huang, 2018.

Сулфатираните ПЗ са известни със своята противосъсирваща, антитромбична, имуномодулираща (вкл. противовъзпалителна), противотуморна, противовирусна, противозадържаща, противогликираща, антиоксидантна активности и др.

Натриев ксилан полисулфат – патент на **Glycan Biosciences LLC** (Австралия). Приложение: профилактика и лечение на респираторни заболявания, алергичен ренит и др. Признат е от Агенцията за контрол на храните и лекарствата в САЩ за третиране на интерстициален цистит.

При сулфатирането се повишава разтворимостта на ПЗ-те и е възможно превръщането на водонерастворими ПЗ в разтворими. Повишената влагозадържаща способност на сулфатираните полимери разкрива перспективното им приложение и в козметиката.

4. Съвременен комплексен структурен анализ на имунологично активните растителни полизахариди

Плодотворното изучаване на физиологичното действие на растителните ПЗ може да стане само след познаването на тяхната химична структура и получаването им в добре пречистен вид.

Съвременен алгоритъм за изучаване на структурата на растителните ПЗ:

- ✓ Предварителна обработка на суровината и извличане (обикновено с гореща вода) на ПЗ-те;
- ✓ Няколкостъпално хроматографско пречистване и фракциониране (SEC и AEC);
- ✓ Определяне на монозахаридния състав след киселинен хидролиз;
- ✓ Определяне на молекулната хетерогенност;
- ✓ Метилизационен анализ на типа на гликозидните връзки след няколкостъпална химична модификация и хидролиз;
- ✓ Комбиниран частичен секвенционен анализ на първичната структура чрез маспектрометрия и ЯМР спектроскопия;
- ✓ Изследване на пространствената структура на ПЗ-те чрез изчислителни и спектроскопски техники.

Критични контролни точки: качество на изходната суровина, хроматографско пречистване, качествен киселинен хидролиз, точно определяне на молекулната маса, качествено метилиране и ацетилиране при определяне типа на глкозидните връзки, йонизация при маспектралния анализ и др.

4.1. Приложение на масспектралния анализ за изучаване на структурата на кисели и неутрални растителни хетерополизахариди

Основен съвременен аналитичен подход за изучаване на първичната структура на ПЗ-те е провеждането на ензимен хидролиз, последван от хроматографско разделяне и масдетекция на получените олигомери в реално време (т. нар. комбинирана или „hyphenated“ техника).

Разделянето на олигомерите може да стане чрез различни хроматографски техники – HPSEC (напр. RID и CAD детектор), HPAEC (напр. PAD детектор), HILIC (напр. ELSD, FLD, MS детектори), IP-RP-UHPLC (напр. MS детектор), UHPSCF (напр. MS) и др.

Масспектралният анализ (тандем маспектрометрия) може да се проведе чрез: ESI-IT-MSⁿ, FAB-MSⁿ, MALDI-TOF-MSⁿ, ESI-TWIM-TOF-MSⁿ, ESI-SPI-TOF-MSⁿ, ESI-QqQ-MSⁿ и др.



Съгл. Domon & Costello (1988) при фрагментирането на олигозахаридите по гликозидната връзка се получават Y и Z (съдържат редуциращия край), и B и C (съдържат нередуциращия край) йоните. Фрагментирането в пръстените се означава като A_i и X_j.

Фиг. 4 Апарат Synapt G2-Si UPLC-q/IM/TOF (Waters) – за реализиране на TWIM-MS. Копирано от ATeN Center (Италия).

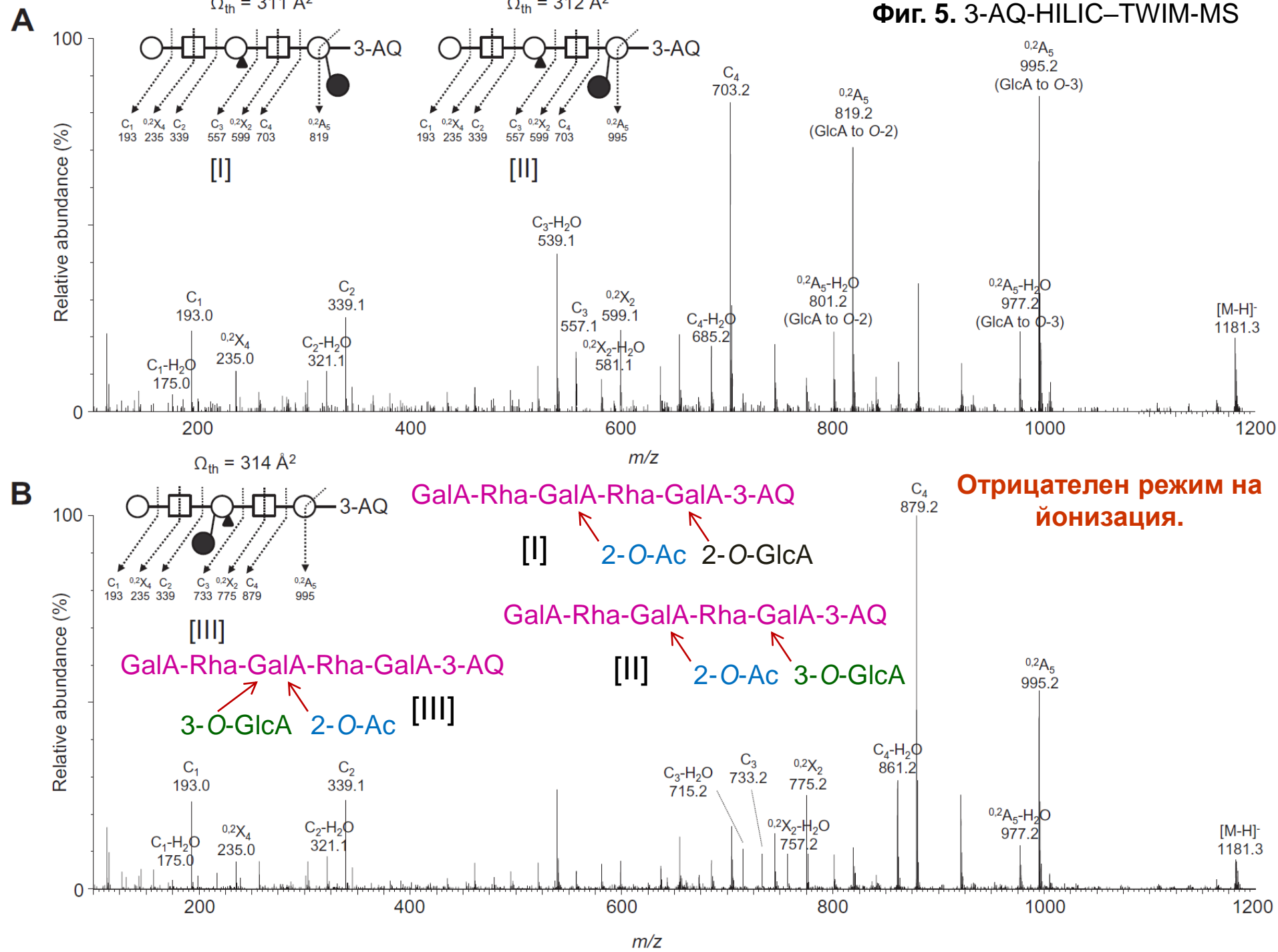
Пример: 4.1. Приложение на 3-AQ-HILIC-TWIM-MS техниката за изучаване на олигомери от имунологично активния пектинов рамногалактуронан тип I

3-AQ – 3-аминохинолин;

HILIC - течна хроматография с хидрофилно взаимодействие;

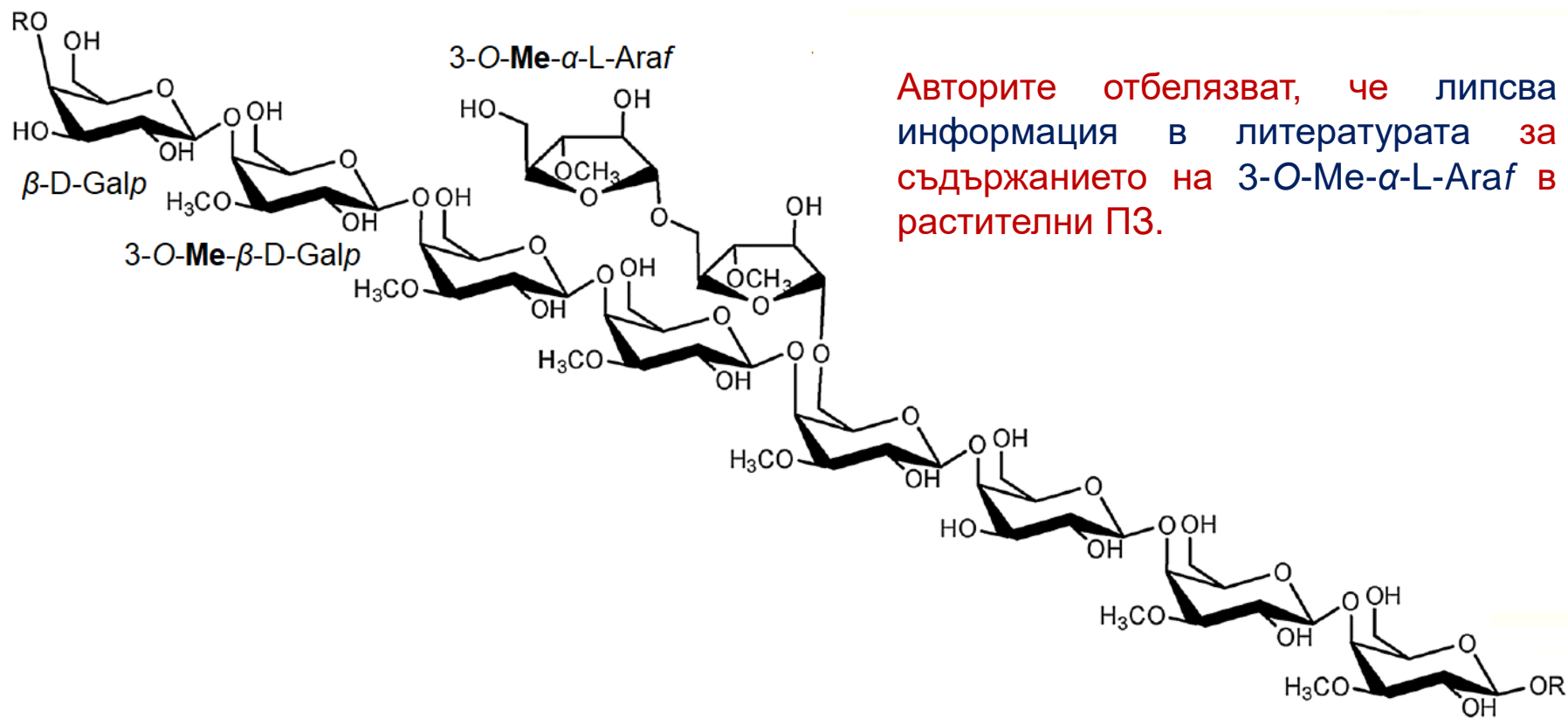
TWIM – вълнообразно движеща се йонна подвижност.

Източник: Leijdekkers, A.G.M., Huang, J.H., Bakx, E.J., Gruppen, H., and Schols, H.A. Identification of novel isomeric pectic oligosaccharides using hydrophilic interaction chromatography coupled to traveling-wave ion mobility mass spectrometry. *Carbohydr. Res.* 404, **2015**, 1–8.



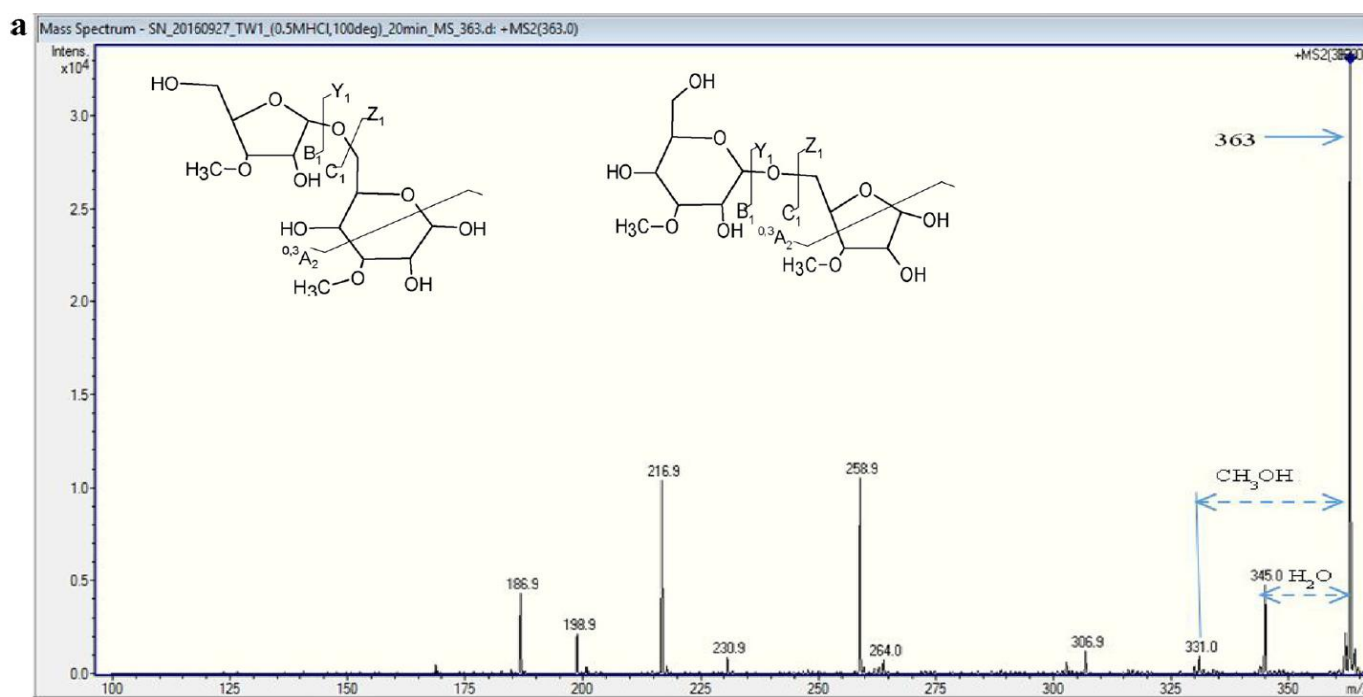
Пример: 4.2. Комбиниране на ESI-MSⁿ и 2D NMR за изследване на първичната структура на растителни хетерополизахариди

Източник: Nagar, S., Hensel, A., Mischnick, P., and Kumar, V. A unique polysaccharide containing 3-O-methylarabinose and 3-O-methylgalactose from *Tinospora sinensis*. *Carbohydr. Polym.* 193, **2018**, 326-335.



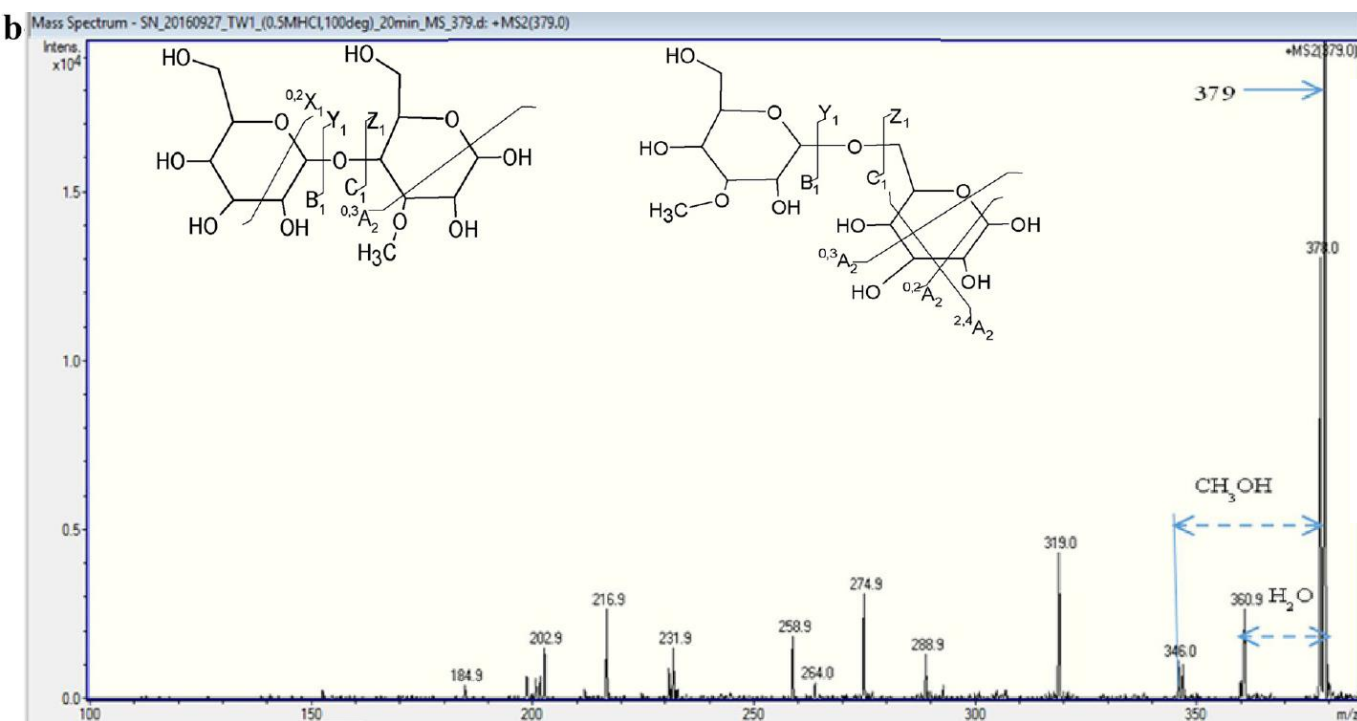
Авторите отбелязват, че липсва информация в литературата за съдържанието на 3-O-Me-α-L-Araf в растителни ПЗ.

Фиг. 6 Експериментално определена структура на нов арабиногалактан, представляващ основна верига от 1,4-свързани 3-O-Me-β-D-Galp и β-D-Galp, с разклонения при O-6 на 3-O-Me-β-D-Galp от 1,5-свързана 3-O-Me-α-L-Araf.



Фиг. 7 MS²
фрагментиране на m/z 363 (a) и m/z 379 (b).
Стериохимията на захарите не е взета под внимание в представената фрагментационна схема.

Положителен режим на йонизация.



Генерирани ли са *in silico* ¹H и ¹³C ЯМР спектри на 3-O-Me- β -Galp-(1 \rightarrow 4)- β -Galp-(1 \rightarrow 4)-3-O-Me- β -Galp и \rightarrow 5)-3-O-Me- α -Araf-(1 \rightarrow , за да предскажат δ_C/δ_H .

ЯМР симулации:
<http://www.nmrdb.org/>

5. Определяне на антигенните епитопи в растителните полизахариди за проявление на имуномодулираща активност

За изучаване на връзката структура-активност на хетерополизахаридите е необходимо:

- 1) *In vitro* оценяване на имуномодулиращата активност на нативния полимер по възпроизводим метод;
- 2) Провеждане на няколкостъпален ензимен хидролиз (и/или химична модификация);
- 3) Fino хроматографско разделяне на ензимния хидролизат и комплексен спектрален анализ на ензимните продукти (т.е. структурен анализ);
- 4) Оценяване отново на биологичната активност на пречистените ензимни продукти;
- 5) Синтезиране на олигозахариди, съдържащи антигенните епитопи и оценяване на биологичната им активност (т.е. потвърждаване на антигенните епитопи).

Съвременните схващания за изучаването на връзката структура-активност в растителните ПЗ се основават изцяло на *молекулярно-биологични подходи*, последвани от биофизични анализи.

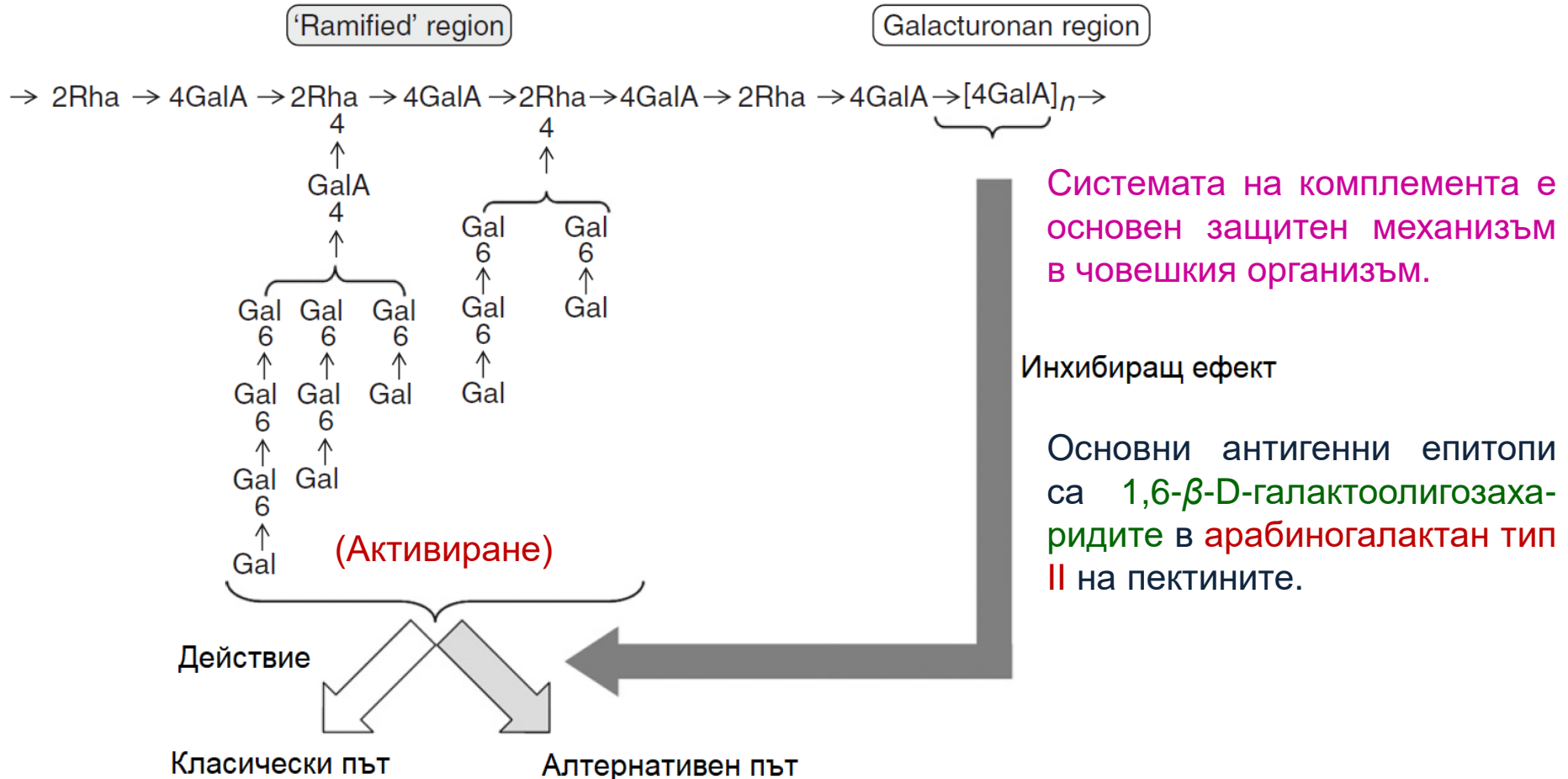
Експериментални подходи:

- ✓ Следене на генната експресия на прицелни сигнални молекули;
- ✓ Използване на антитела, разпознаващи ПЗ-те антигени (www.glycoepitope.jp);
- ✓ Използване на инхибитори на целеви рецептори и ензими;
- ✓ Биофизично взаимодействие от типа рецептор-лиганд;
- ✓ Други.

Критични контролни точки: замърсяване с различни по активност клетъчностенни микробиални ПЗ, съотношение ПЗ:биологичен обект, специфичност и достъпност на ензимното действие и др.

5.1. Връзка структура-комплемент-фиксираща активност

Значителен принос в изучаването на антигенните епитопи в растителните ПЗ, отговорни за проявление на имуномодулираща активност, имат японската група на проф. Н. Yamada и проф. Н. Kiyohara в Университет „Китасато“, както и тази на проф. В. Paulsen в Университета на Осло.

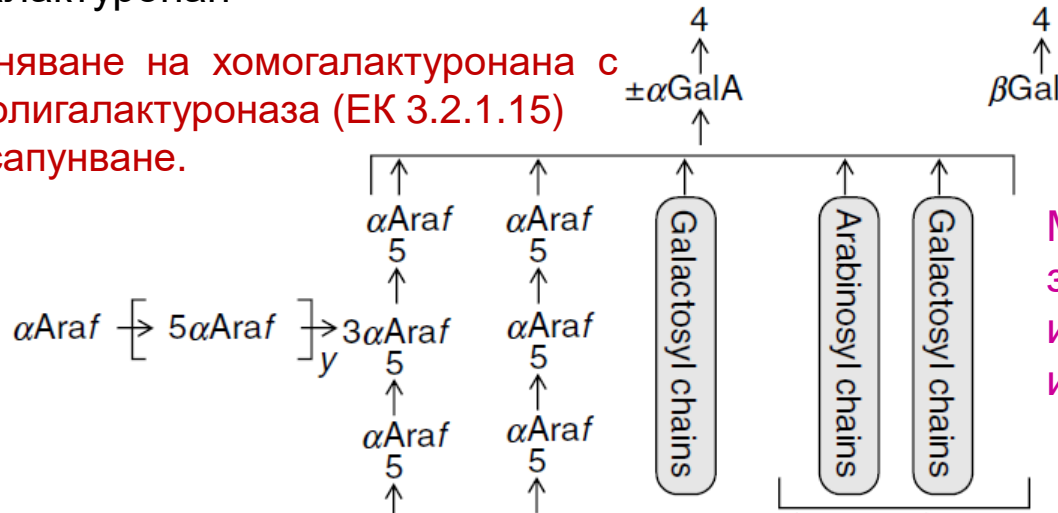


Фиг. 8 Антигенни епитопи в пектиновите полизахариди от *Angelica acutiloba* Kitagawa за проявление на комплемент-фиксираща активност. Копирано от Yamada & Kiyohara, 2007.

5.2. Връзка структура-митогенна активност

Хомогалактуронан $\rightarrow 2\alpha\text{Rha} \rightarrow 4\alpha\text{GalA} \rightarrow 2\alpha\text{Rha} \rightarrow 4\alpha\text{GalA} \rightarrow 2\alpha\text{Rha} \rightarrow 4\alpha\text{GalA} \rightarrow 2\alpha\text{Rha} \rightarrow 4\alpha\text{GalA} \rightarrow$

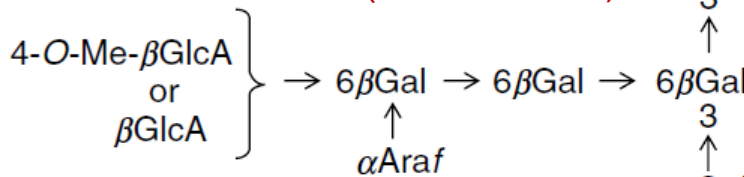
Отстраняване на хомогалактуронана с ендо-полигалактуроназа (ЕК 3.2.1.15) след осапунване.



Митогените често се използват за стимулиране на лимфоцитите и по този начин за оценка на имунната функция.

Отстраняване на 1,5-арабинаните с ендо- $\alpha\text{-L}$ -арабинаназа (ЕК 3.2.1.99).

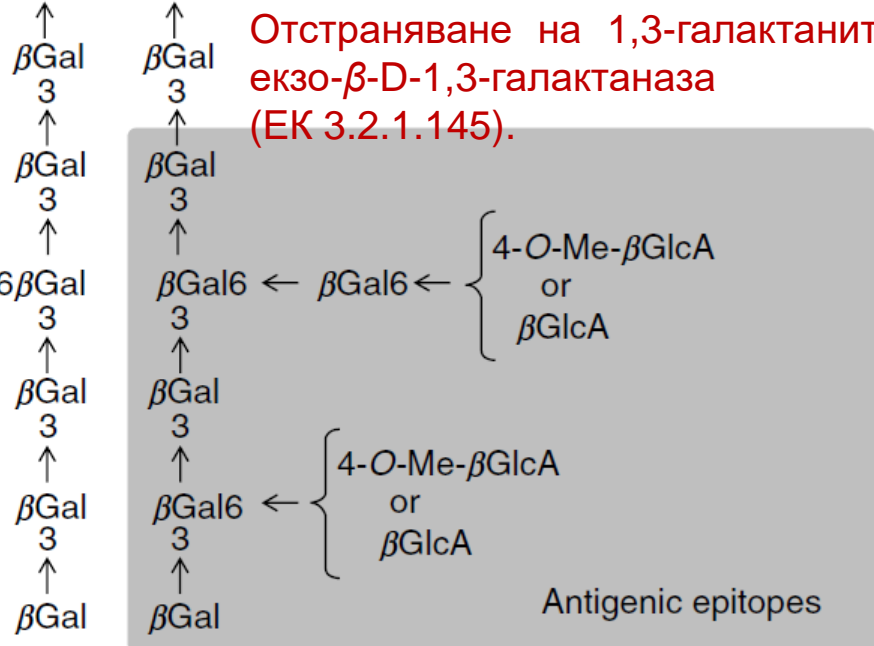
Отстраняване на 1,6-галактаните с ендо-1,6- $\beta\text{-D}$ -галактаназа (ЕК 3.2.1.164).



Отстраняване на арабинозилните остатъци с $\alpha\text{-L}$ -арабинофуранозидаза (ЕК 3.2.1.55).

Отстраняване на *t*-(4-O-Me)- $\beta\text{-D}$ -GlcA с $\beta\text{-D}$ -глюкуронидаза (ЕК 3.2.1.31).

Отстраняване на 1,3-галактаните с екзо- $\beta\text{-D}$ -1,3-галактаназа (ЕК 3.2.1.145).



Фиг. 9 Антигенни епитопи в пектиновите полизахариди от *Vupleurum falcatum* за проявление на митогенна активност. Копирано от Yamada & Kiyohara, 2007.

Имуномодулиращ α -глюкан (WG-PS) от тревата на обикновената пшеница (*Triticum aestivum*).

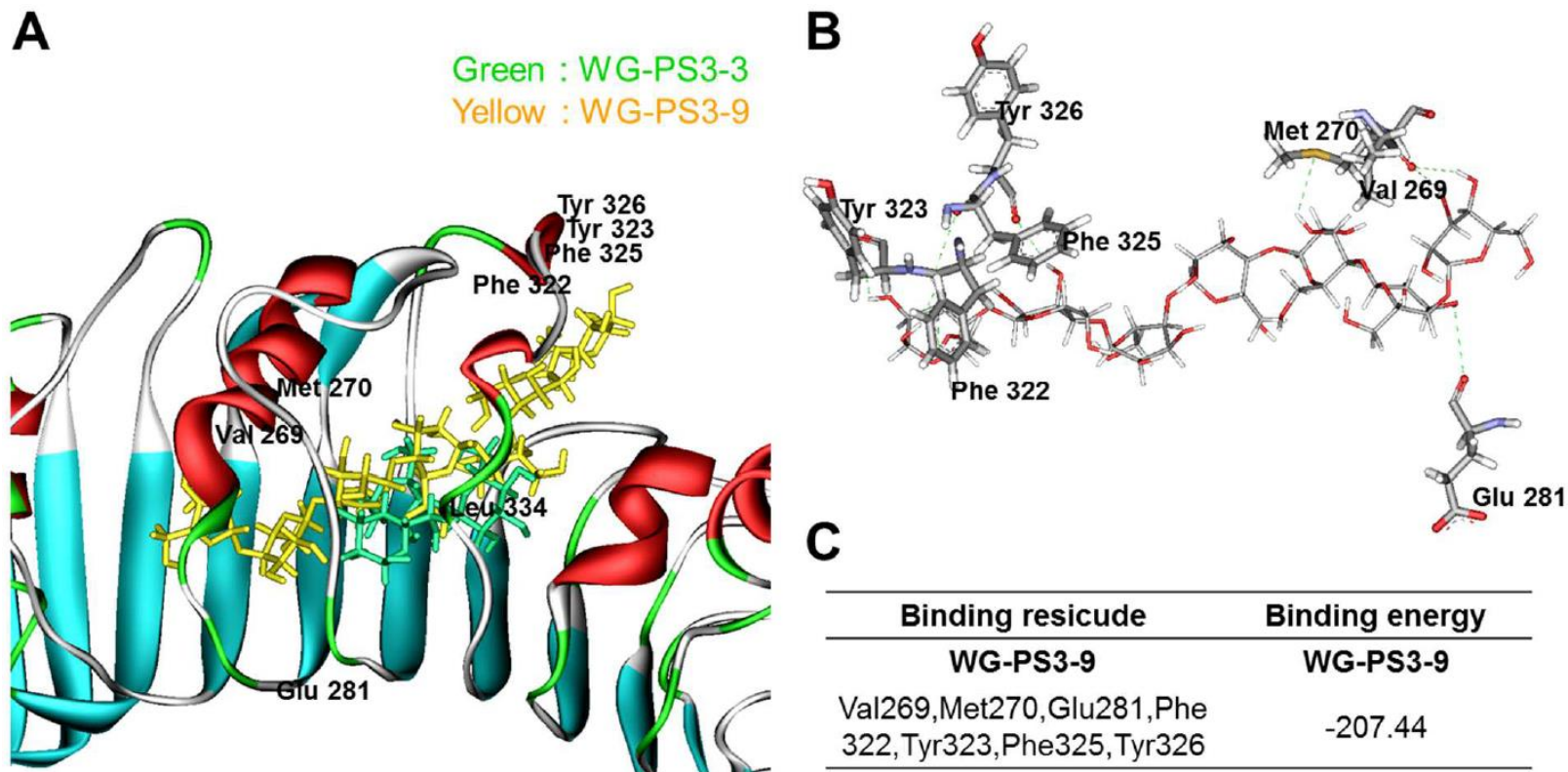
WG-PS3 повишава синтеза на основните Th1 цитокини (IL-12, TNF- α , IL-2 и IFN- γ).

Моноцитите заемат централно място в изграждането на имуномодулаторен отговор от WG-PS3 към лимфоцитите чрез експресията на повърхностни молекули и цитокини.

Активната WG-PS3-9 е малтохептаоза (GC-MS, MS/MS и ЯМР).

Цитокин-стимулиращата активност на малтохептаозата в моноцитите се предизвиква чрез свързване с TLR2.

WG-PS3-9 може да активира NF- κ B през TLR2, иницирайки синтеза на цитокини в моноцити, които по-нататък активират Т-клетките и NK клетките. (активиране на имунитета)



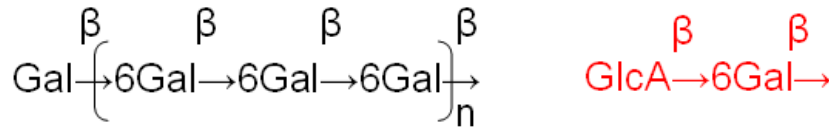
Фиг. 10 Регион на свързване между малтохептаозата и TLR2. Копирано от Tsai et al. (2013).

5.3. Връзка структура-интестинална имуномодулираща активност

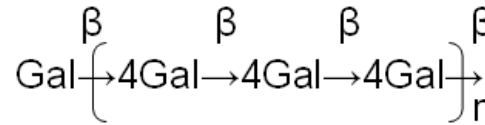
Hong et al. (1998) са открили, че ПЗ-те в медицинския воден екстракт от японската кампо билкова смес "Juzen-Taiho-To" (TJ-48) проявява *in vivo* интестинален имуномодулиращ ефект чрез активиране на клетки в чревните Пайерови плаки на опитни животни.

Тривалентни гликоклъстери, носещи 4-O-Me- β -D-GlcpA-(1 \rightarrow 6)- β -D-Galp-(1 \rightarrow или 4-O-Me- β -D-GlcpA-(1 \rightarrow 6)- β -D-Galp-(1 \rightarrow 6)- β -D-Galp-(1 \rightarrow са показали статистически значима *in vivo* интестинална имуномодулираща активност.

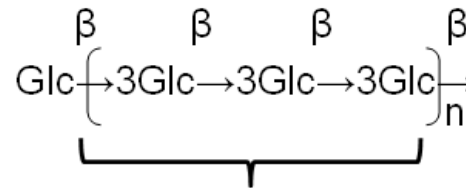
Astragalus mongholicus



Glycyrrhiza uralensis
Biophytum petersianum

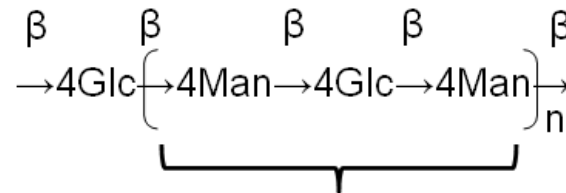


Phellinus linteus



Странични вериги (Gal/Man)

Anemarrhena asphodeloides



Странични вериги (?)



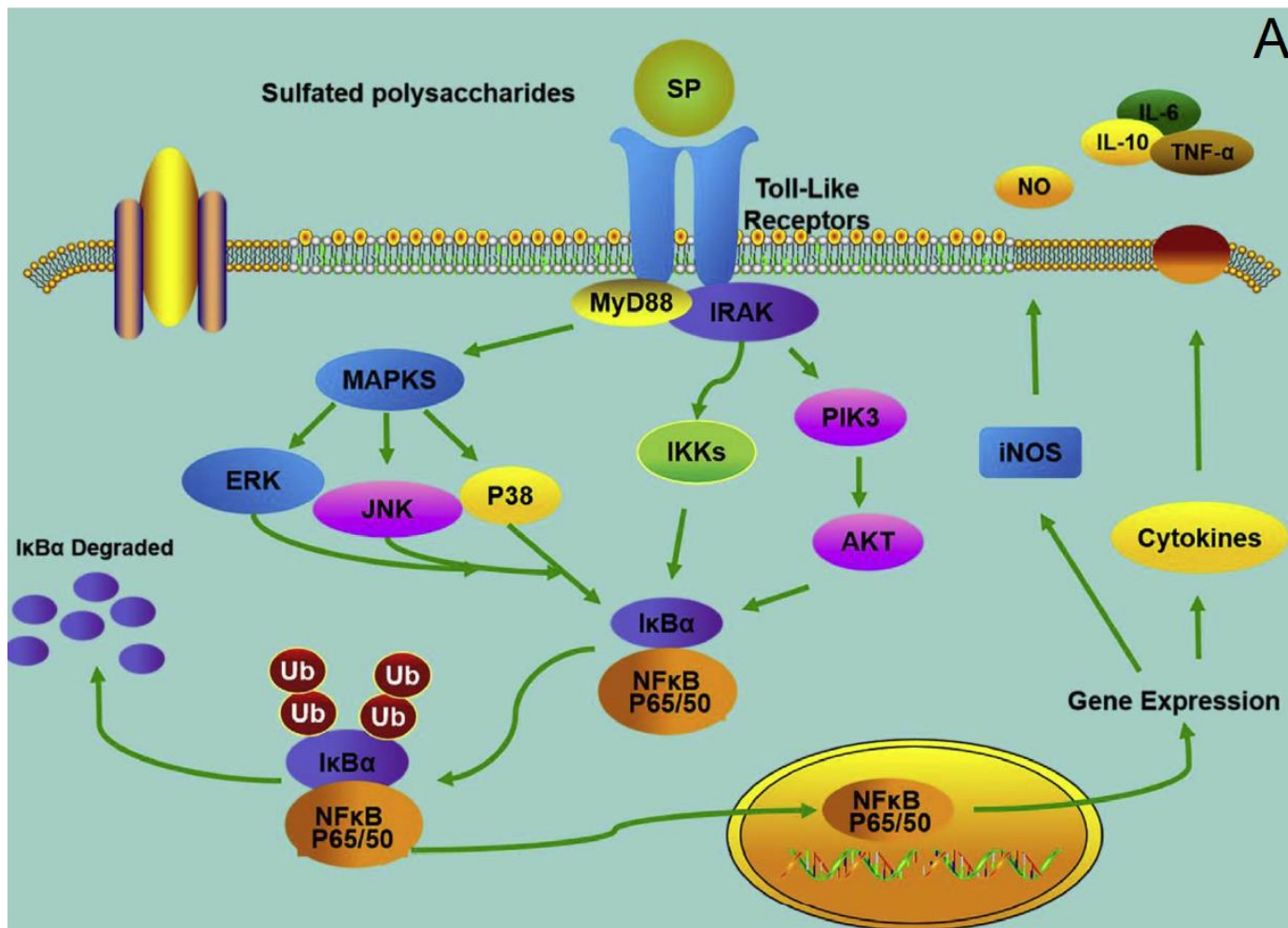
Пайерова плака
от тънките черва
на опитна мишка.

Активиране на Т-клетки и
фагоцити в Пайеровите
плаки.

Фиг. 11 Антигенни епитопи за проявление на интестинална имуномодулираща активност чрез клетки на чревните Пайерови плаки. Предоставено от проф. Hiroyuki Kiyohara (Университет „Китасато“, Токио, Япония).

6. Биохимични основи на имуномодулацията с растителните полизахариди

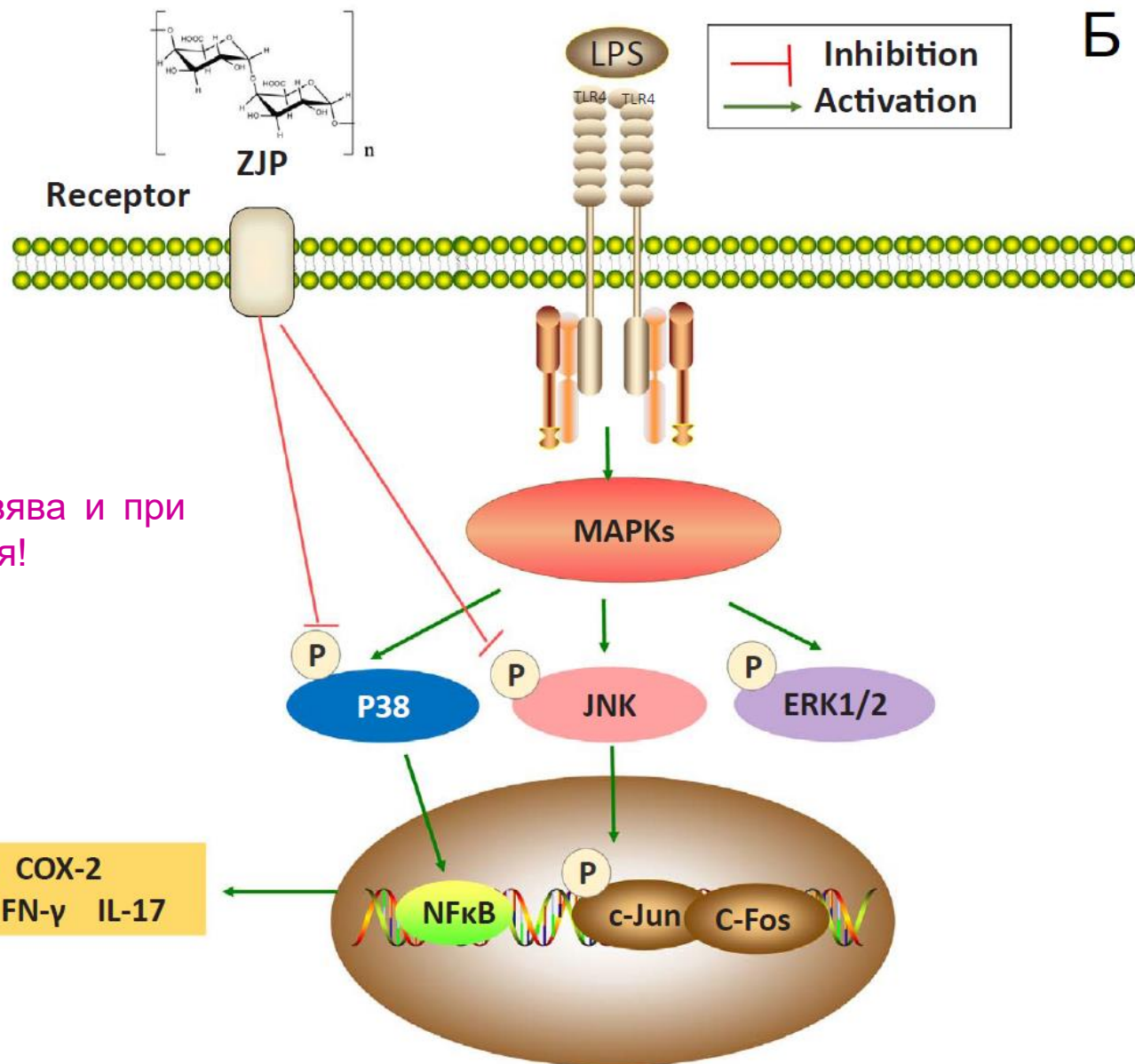
При изследване на имуномодулиращите ефекти на ПЗ-те в днешно време най-често се прибегва до 1) **анализиране на активността на ПЗ-те върху макрофаги *in vitro***, 2) **преминавайки към експерименти с лимфоцити и туморни клетъчни линии**, достигайки до 3) ***in vivo* експерименти с опитни животни** и 4) **по-рядко с хора**.



Фиг. 12А. Активиране на NF-κB сигналния път в миши макрофаги от растителни ПЗ. Копирано от Wang, Z. et al. (2018)

При макрофаги:
усилване на фагоцитозата, производството на NO (iNOS), цитокини и др.

In vitro противовъзпалителна активност на растителните полизахариди



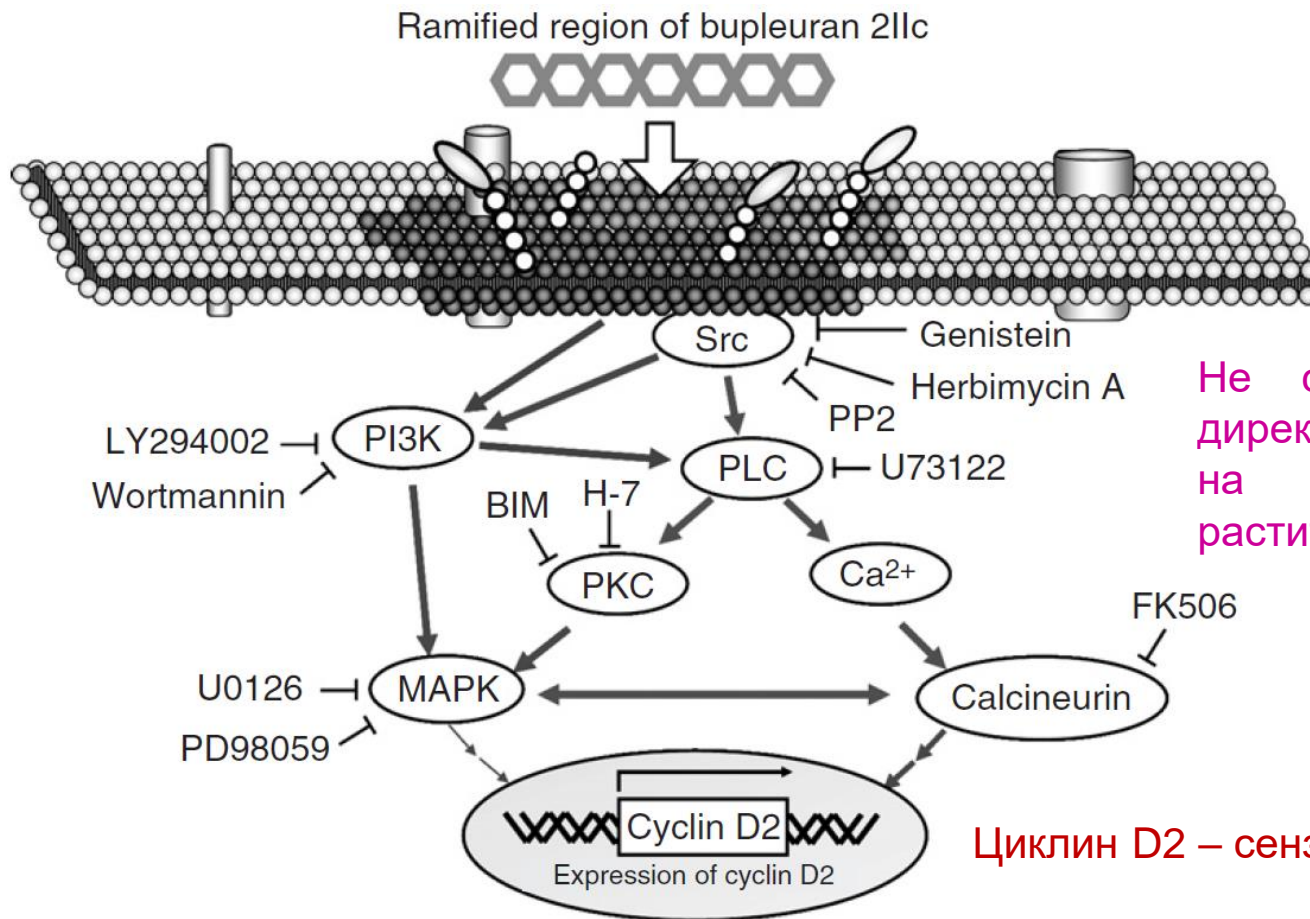
Ефектът се проявява и при *in vivo* изследвания!

Фиг. 12Б. Проявяване на противовъзпалителна активност от П3-те при инфектиране на макрофаги с липополизахариди. Копирано от Zhan et al. (2018).

Активиране на имунокомпетентни клетки с растителни полизахариди

Matsumoto et al. (2003; 2005; 2008a) са изследвали биохимичните основи за *in vitro* и *in vivo* пролиферативното действие на пектиновата ензимно-модифицирана фракция bupleuran 2IIc/PG-1 (рамногалактуронан тип I с β -D-3,6-галактани) върху В-клетки.

В пътя на сигналната трансдукция, водеща до ПЗ-предизвиканата експресия на циклин D2, участват: Src тирозин киназите, PI 3 киназата, PKC, Ca мобилност и калцинеурина.



Не се среща често директното активиране на В-клетки от растителни ПЗ.

Циклин D2 – сензор за растеж.

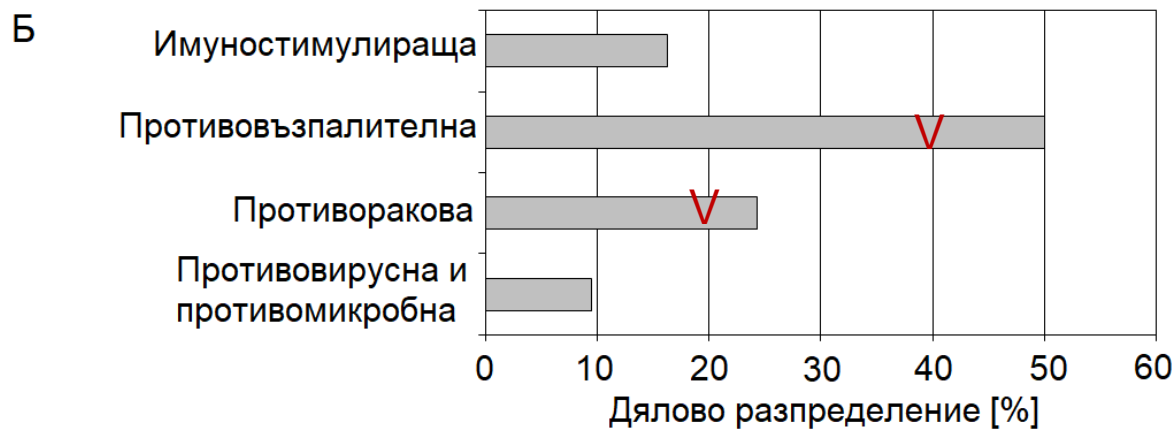
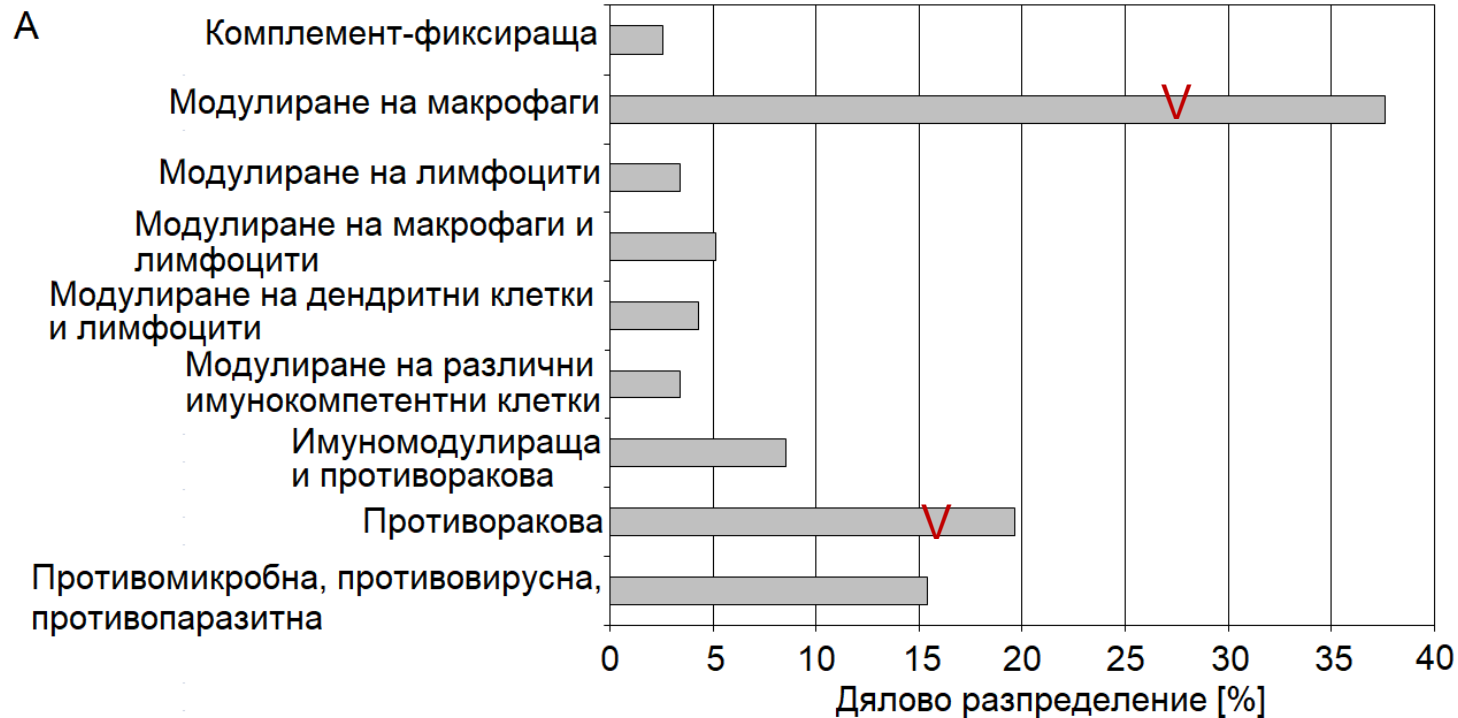
Фиг. 13 Биохимични основи за проявлението на митогенна активност от пектинова фракция bupleuran 2IIc/PG-1. Копирано от Yamada & Kiyohara (2007).

Терапевтични ефекти на имуномодулиращите растителни полизахариди

Таблица 1. *In vivo* ефекти на биологично активните растителни полизахариди върху имунната система

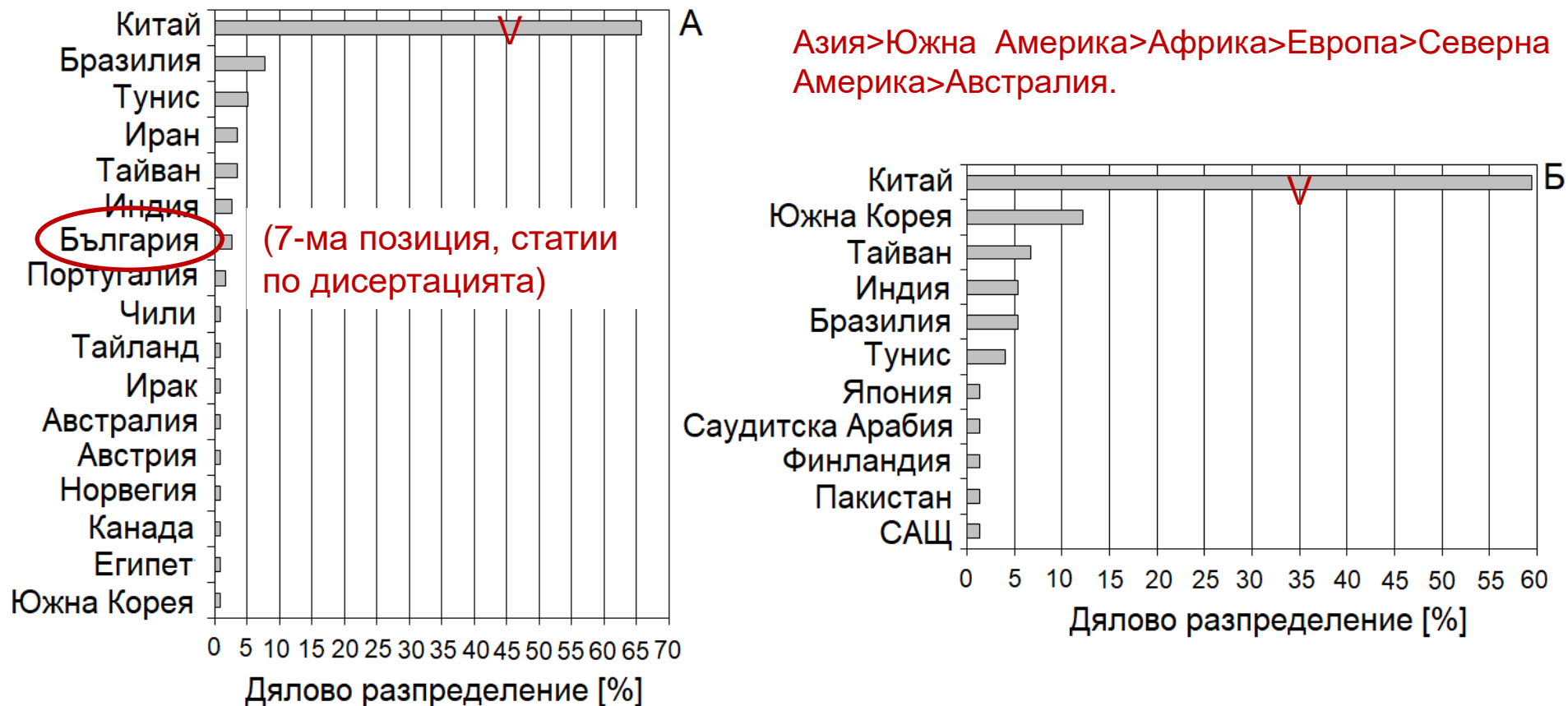
Активен полизахарид	Ефект	Доза	Литература
от <i>Rhynchosia minima</i> (корен)	Активира NF-κB сигналния път през TLR4 в макрофаги <i>in vitro</i> . Повишава серумните нива на цитокини (IL-6, TNF-α и MCP-1), както и съдържанието на CD3 ⁺ и CD4 ⁺ Т-клетките, CD4 ⁺ /CD8 ⁺ съотношението на спленоцити и намалява индуцираната от циклофосфамид имуносупресия в мишки.	200 mg/kg/d (p.o.)	Jia et al. (2018)
Ксилоглукан от тамаринд (плод)	Проявява противоязвена активност в опитни мишки, като понижава експресията на муцин 1 и 2, IL-1β и IL-6, както и на TLR4, MyD88, I-κB и NF-κB (намалява възпалението през TLR4/NF-κB сигналния път). ПЗ-ът се свързва <i>in vitro</i> към муцин 1 и IL-6R.	100 или 300 mg/kg/d (p.o.)	Periasamy et al. (2018)
от <i>Polygonatum sibiricum</i>	Инхибира развитието на белодробен карцином в опитни мишки, като подобрява далачния и тимусния индекси, повишава секрецията на цитокини (IL-1β, IL-6, IL-12p70 и TNF-α), NO и съотношението на CD4 ⁺ /CD8 ⁺ Т-клетките. Ефектът се свързва с имуностимулиращата активност на ПЗ-да през TLR4-MAPK/NF-κB (повишава експресията на мРНК на TLR4, MyD88, TRAF6 p-NF-κB, P38 и p-c-JUN в далака на опитните животни) сигналните пътища.	200 mg/kg/d (i.g.)	Long et al. (2018)
Пектинов ПЗ от <i>Houttuynia cordata</i> (цяло растение)	Увеличава преживяемостта на мишки, заразени с грипен вирус (IAV H1N1) и предпазва от увреждане белите дробове и червата, като потиска вирусната репликация. Намалява нивата на белодробни инфламаторни цитокини/хемокини и броя на чревни гоблетни клетки. Инхибирането на възпалението в белите дробове и червата се свързва с потискане експресията на TLR4 и p-NFκB p65.	20-100 mg/kg/d (p.o.)	Zhu et al. (2018)
от <i>Citrus grandis</i>	Значително облекчава симптомите на хроничния фарингит при пациенти. Понижава броя на патологичните клетки при NH ₃ -предизвикан фарингит в зайци. Потиска αCD3-индуцираното повишение на IFN-γ, IL-2 и IL-4. Противовъзпалителното действие се свързва с инхибиране фосфорилирането на IKKα/β, последвано от потискане активирането на NF-κB пътя и оттам понижението на експресията на инфламаторни медиатори.	10 mg/kg/3 пъти на ден (p.o.) при хора 1 или 2 mg/kg/4 пъти на ден при зайци	Chen et al. (2017)

7. Кратък преглед на настоящото състояние на изследванията върху имуномодулиращите растителни полизахариди по света



Фиг. 14 Публикувани експериментални статии с *in vitro* (**А**) и *in vivo* (**Б**) биологични експерименти върху имуномодулиращите растителни полизахариди в електронната платформа **ScienceDirect** за периода 2017 до 2018 г. м. май (вкл.).

На Балканския полуостров системни изследвания върху имуномодулиращите растителни ПЗ и тяхното внедряване в производството се провеждат в България дълги години в ИОХЦФ-БАН под ръководството на доц. д-р Мария Крачанова.



Азия>Южна Америка>Африка>Европа>Северна Америка>Австралия.

Фиг. 15 Разпределение по държави на експерименталните *in vitro* (А) и *in vivo* (Б) изследвания с имуномодулиращи растителни полизахариди в електронната платформа ScienceDirect за периода 2017 до 2018 г. м. май (вкл.).

8. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучаването на имуномодулиращата активност на растителните ПЗ крие огромен потенциал за натрупването на есенциални знания с реално приложение в разработването на продукти за медицината и диететиката.

✓ Значението на биоорганичната химия за изучаването на връзката структура-имуномодулираща активност при растителните ПЗ се обуславя от използването на химични подходи за определяне на първичната структура на ПЗ-те и за модифициране на тяхната структура.

✓ Една отлична стратегия за финото изучаване на антигенните епитопи в ПЗ-те е комбинирането на спектрални и ензимни техники.

✓ От разгледаните ПЗ, тези от пектинов тип заеха централно място в способността за проявление на имуномодулираща активност. Пектиновите арабино-3,6-галактани (арабиногалактан тип II), съдържащи 1,6- β -D-галактоолигозахариди, заместени или незаместени с β -D-GlcA (4-O-Me-GlcA), се проявиха като главно отговорни за наблюдаваната *in vitro* и *in vivo* интестинална имуномодулираща и митогенна активности от нативните пектини.

✓ Растителните ПЗ показаха, че са способни да се свързват с повърхностните TLR, да предизвикат фосфорилирането на множество сигнални протеини като/чрез Src, Syk, PKC, MAPK киназите и чрез тях да модулират NF- κ B сигналния път. Последният е свързан с продукцията на NO и цитокини при нормални физиологични условия или при имунодефицит и възпаление.

✓ Разгледаните примери ясно показват, че *in vitro* имуномодулиращите ефекти на ПЗ-те доста често могат да се проявят като протективни при *in vivo* възпаления, вирусни инфекции, туморни, автоимунни и стомашно-чревни заболявания. Това именно обуславя перспективата и актуалността на изучаването на имуномодулиращите свойства на растителните ПЗ на химично и биологично нива.

9. Текущи изследвания и перспективи

Ас. д-р инж. Йордан Георгиев (SCOPUS *h-index*: 4; общ импакт фактор: 17.861).
Занимава се с изследвания върху растителни ПЗ от 2010 г.

Участие в подготовката на експериментални статии и ръкописи извън докторската дисертация:

1. Ognyanov M.H., Hodzhova M.M., Petkova N.T., Denev P.N., **Georgiev Y.N.**, and Kratchanova M.G. Isolation and characterization of plant cell wall material from rose hip fruits. *Bulgarian Chemical Communications* (под печат, 2018);
2. Ognyanov M., **Georgiev Y.**, Petkova N., Ivanov I., Vasileva I., and Kratchanova M. Isolation and characterization of pectic polysaccharide fraction from *in vitro* suspension culture of *Fumaria officinalis* L. Подаден в *International Journal of Polymer Science* (2018);
3. Denev P., Kratchanova M., Petrova I., Klisurova D., **Georgiev Y.**, Ognyanov M., and Yanakieva I. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) fruits and functional drinks differ significantly in their chemical composition and antioxidant activity. Подаден в *Journal of Chemistry* (2018);
4. Klisurova D., Petrova, I., Ognyanov M., **Georgiev Y.**, Kratchanova M., and Denev P. Co-pigmentation of black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) anthocyanins with phenolic co-pigments and herbal extracts. Подаден във *Food Chemistry* (2018);
5. Denev P., Todorova V., Ognyanov M., **Georgiev Y.**, Yanakieva I., Tringovska I., Grozeva S., and Kostova D. Fruit biochemical diversity within Balkan pepper (*Capsicum annuum* L.) germplasm collection. Подаден в *Scientia Horticulturae* (2018).

Участие в изследователски проекти на конкурсен принцип

1. „Изучаване на структурата и имуномодулиращия потенциал на водно-екстрахируемите полизахариди от древния родопски ендемит *Haberlea rhodopensis* Friv. (Орфеево цвете)“. Финансиран по „Програма за подпомагане на млади учени и докторанти на БАН – 2017 г.“ (07.08.2017-06.02.2019). Ръководител – ас. д-р инж. Йордан Георгиев. В сътрудничество с проф. В. Paulsen в Университет на Осло. (1 дипломант от УХТ-Пловдив – Габриела Фъзлова)
2. „Интегриран подход за подобряване качеството, органолептичните свойства и биологичната активност на функционални храни от арония (*Aronia melanocarpa*) чрез копигментация и синергизъм в антиоксидантната активност“. Финансиран от ФНИ към МОН (21.12.2016-20.12.2018). Ръководител: доц. д-р Петко Денев, ЛБАВ-Пловдив при ИОХЦФ-БАН.
3. „Комплексен подход за оценка на промените в биологично активни вещества и антиоксидантния потенциал на облъчени растителни храни и билки. Нови протектори срещу гама-облъчване“. Финансиран от ФНИ към МОН (2017-2020). Ръководител – доц. д-р Светлана Момчилова, ИОХЦФ-БАН.
4. „Оползотворяване и приложение на отпадъчни материали от етерично-маслената индустрия за „зелен“ синтез на метални наночастици“. Финансиран от ФНИ към МОН (2017-2020). Ръководител – доц. д-р Антон Славов, УХТ-Пловдив.
5. „Фенотипиране и генотипиране на образци пипер (*Capsicum annuum*) с произход Балканите за създаване на сорс колекция“. Финансиран от ФНИ към МОН (16.12.2016–15.12.2018). Ръководител: доц. д-р Иванка Тринговска-Мендева, ИЗК „Марица“, Пловдив.
6. „Оползотворяване на киноата (*Chenopodium quinoa*) и отпадъците след нейната преработка като обещаващи източници на биологично активни вещества в Египет“, (01.01.2016-31.12.2018), по програма на БАН за финансиране на междуакадемични договори и споразумения (ЕБР) с Университет на Бенха, Египет. Ръководител – доц. д-р Петко Денев, ИОХЦФ-БАН.

Перспективи за развитие:

Кандидатът възнамерява да продължи да се развива на границата между химията и биологията при съчетаване на изследователска и преподавателска дейности. По-конкретно в научен план да продължи да концентрира част от своето внимание върху изследването на структурата на растителните билкови ПЗ чрез методите на ЯМР спектроскопията и маспектрометрията, едновременно с изследването на биохимичните механизми на имуномодулацията с растителните ПЗ. Трудът от тези изследвания има за цел да бъде полезен при разработването на български продукти с приложение във функционалното и диетично хранене на човека.

Търсене на възможности за проектно финансиране в колаборация с други учени.

Национални научни сътрудничества (с отпечатани съвместни публикации по ПЗ):

Проф. д-р Балик Джамбазов, ПУ Паисий Хилендарски;

Проф. д-р Алберт Кръстанов, УХТ-Пловдив;

Доц. д-р Веселин Късовски, Институт по микробиология Стефан Ангелов, БАН;

Доц. д-р Даниела Антонова, ИОХЦФ-БАН.

Международни научни сътрудничества (с отпечатани съвместни публикации по ПЗ):

Prof. Berit Paulsen, University of Oslo (Norway);

Prof. Hiroaki Kiyohara & Prof. Haruki Yamada, Kitasato University (Japan);

Assoc. Prof. Antonin Lojek, Institute of Biophysics, Czech Academy of Sciences (Czech Republic).

Научно-приложна дейност: В процес на разработване е нутрацевтичен продукт с имуномодулиращо и антиоксидантно действия, съдържащ билкови ПЗ, в партньорство с Иновативно-Технологичен Център ООД, гр. Пловдив. (привличане на 1 студент от УХТ-Пловдив за дипломант).

НАУЧНО ЖУРИ:

Проф. д-р Павлинка Александрова Долашка (ИОХЦФ-БАН)

Проф. дхн Пантелей Петров Денев (УХТ- Пловдив)

Проф. д-р Илия Николов Илиев (ПУ „Паисий Хилендарски“)

Доц. д-р Петко Недялков Денев (ИОХЦФ-БАН)

Доц. д-р Мария Георгиева Крачанова (ИОХЦФ-БАН, пенсионер)

Доц. д-р Антоанета Борисова Трендафилова (ИОХЦФ-БАН, резервен член)

Доц. д-р Петко Иванов Бозов (ПУ „Паисий Хилендарски“, резервен член)

БЛАГОДАРЯ ВИ ЗА ВНИМАНИЕТО! 😊

Изказвам благодарности към учителите ми от УХТ-Пловдив, ПУ „Паисий Хилендарски“, ИОХЦФ-БАН (вкл. колеги) и на тези от Германия, Япония, Чехия и Норвегия за знанията, които съм получил от тях!

I would like to thank to my teachers from UFT-Plovdiv, Plovdiv University Paisii Hilendarski, IOCCP-BAS (incl. colleagues) and these from Germany, Japan, Czech Republic and Norway for the knowledge, which I have got from them!

Цитираната литература може да бъде намерена в пълния текст. The cited literature could be find in the whole text (in Bulgarian).

Настоящият материал беше подготвен с използването на литературни данни за целите на конкурса. The current material was prepared using literature data for the purpose of an exam for a Chief assistant position.

Електронен адрес за кореспонденция: yordan_georgiev88@abv.bg (Yordan Georgiev, PhD)