

1. Ilieva Y, Dimitrova L, Georgieva A, Vilhelmova-Ilieva N, Zaharieva M M, Kokanova-Nedialkova Z, Dobрева A, Nedialkov P, Kussovski V, Kroumov A D, Najdenski H, Mileva M.* *In Vitro Study of the Biological Potential of Wastewater Obtained after the Distillation of Four Bulgarian Oil-Bearing Roses. *Plants*, 2022, 11, 1073. <https://doi.org/10.3390/plants11081073>*

Abstract: The wastewater after rose oil distillation is usually discharged into the drainage systems and it represents a serious environmental problem. While being rich in polyphenols, which have beneficial biological activity and application in the pharmaceutical industry, limited research has been carried out about the biological activity of the specific wastewaters *per se*. Wastewaters after distillation of the four Bulgarian oil-bearing roses *Rosa damascena* Mill., *R. alba* L., *R. centifolia* L., and *R. gallica* L. exerted significant antioxidant activity and good antiherpes simplex virus type-1 (HSV-1) activity while maintaining a good toxicological safety profile (low cytotoxic effect) towards normal cell lines. More precisely, the non-tumorigenic cells were a human (HEK-293 embryonic kidney cells) and a mouse cell line (CCL-1 fibroblasts, which are recommended as a standard for cytotoxicity evaluation in Annex C of ISO 10993-5). The concentrations that achieved antioxidant and radical scavenging effects (0.04–0.92% v/v) were much lower than most of the maximum tolerated concentrations for the tissue culture cells (0.2–3.4% v/v). The wastewaters had a weak antiproliferative effect against *Staphylococcus aureus*. None of the wastewaters had activity against Gram-negative bacteria or a bactericidal or antifungal effect. We can conclude that these four species, which are the most preferred species worldwide for producing high-quality rose oil, have the potential to be developed as promising antioxidant and antiherpesvirus nutraceuticals.

Keywords: rose wastewaters; antiradical activity; antiherpesvirus activity; cytotoxicity; antibacterial properties

Абстракт: Отпадъчните води след дестилация на розово масло обикновено се изхвърлят в канализационните системи и представляват сериозен екологичен проблем. Въпреки че са богати на полифеноли, които имат благоприятна биологична активност и приложение във фармацевтичната промишленост, са проведени ограничени изследвания за биологичната активност на конкретните отпадъчни води като такива. Отпадъчните води след дестилация на четирите български маслодайни рози *Rosa damascena* Mill., *R. alba* L., *R. centifolia* L. и *R. gallica* L. оказват значителна антиоксидантна активност и добра антихерпес симплекс вирус тип 1 (HSV-1) активност, като същевременно запазват добър токсикологичен профил на безопасност (нисък цитотоксичен ефект) спрямо нормални клетъчни

линии. По-конкретно, нетуморогенните клетки бяха човешка (ембрионални бъбречни клетки HEK-293) и миша клетъчна линия (фибробласти CCL-1, които се препоръчват като стандарт за оценка на цитотоксичността в приложение В към ISO 10993-5). Концентрациите, при които се постига антиоксидантен и радикалоулавящ ефект (0,04-0,92 % v/v), са много по-ниски от повечето максимално допустими концентрации за клетките от тъканни култури (0,2-3,4 % v/v). Отпадъчните води проявяват слаб антипролиферативен ефект срещу *Staphylococcus aureus*. Нито една от отпадъчните води не е показала активност срещу Грам-отрицателни бактерии или бактерициден или противогъбичен ефект. Можем да заключим, че тези четири вида, които са най-предпочитаните видове в световен мащаб за производство на висококачествено розово масло, имат потенциал да бъдат разработени като обещаващи антиоксидантни и антихерпесни нутрацевтици.

Ключови думи: розови отпадъчни води; антирадикална активност; антихерпесвирусна активност; цитотоксичност; антибактериални свойства

2. Valcheva V, Simeonova R, Mileva M, Philipov S, Petrova R, Dimitrov S, Georgieva A, Tsvetanova E, Teneva Y, Angelova VT. *In Vivo Toxicity, Redox-Modulating Capacity and Intestinal Permeability of Novel Aroylhydrazone Derivatives as Anti-Tuberculosis Agents. Pharmaceutics*, 2022 Dec 26;15(1):79. doi: 10.3390/pharmaceutics15010079

Abstract: The emergence and spread of *Mycobacterium tuberculosis* strains resistant to many or all anti-tuberculosis (TB) drugs require the development of new compounds both efficient and with minimal side effects. Structure-activity-toxicity relationships of such novel, structurally diverse compounds must be thoroughly elucidated before further development. Here, we present the aroylhydrazone compounds (3a and 3b) regarding their: (i) acute and subacute toxicity in mice; (ii) redox-modulating in vivo and in vitro capacity; (iii) pathomorphology in the liver, kidney, and small intestine tissue specimens; and (iv) intestinal permeability. The acute toxicity test showed that the two investigated compounds exhibited low toxicity by oral and intraperitoneal administration. Changes in behavior, food amount, and water intake were not observed during 14 days of the oral administration at two doses of 1/10 and 1/20 of the LD50. The histological examination of the different tissue specimens did not show toxic changes. The in vitro antioxidant assays confirmed the ex vivo results. High gastrointestinal tract permeability at all tested pH values were demonstrated for both compounds. To conclude, both compounds 3a and 3b are highly permeable with low toxicity and can be considered for further evaluation and/or lead optimization.

Абстракт: Появата и разпространението на щамове *Mycobacterium tuberculosis*, резистентни към много или всички противотуберкулозни (ТВ) лекарства, изискват разработването на нови съединения, едновременно ефективни и с минимални странични ефекти. Взаимоотношенията структура-активност-токсичност на такива нови, структурно разнообразни съединения трябва да бъдат напълно изяснени преди по-нататъшно развитие. Тук представяме ароилхидразоновите съединения (3a и 3b) по отношение на тяхната: (i) остра и подостра токсичност при мишки; (ii) редокс-модулиращ in vivo и in vitro капацитет; (iii) патоморфология в тъканни проби от черния дроб, бъбреците и тънките черва; и (iv) чревна пропускливост. Тестът за остра токсичност показва, че двете изследвани съединения показват ниска токсичност при перорално и интраперитонеално приложение. Промени в поведението, количеството храна и приема на вода не са наблюдавани по време на 14 дни от пероралното приложение на две дози от 1/10 и 1/20 от LD50. Хистологичното изследване на различните тъканни проби не показва токсични промени. In vitro антиоксидантните анализи потвърждават ex vivo резултатите. Висока пропускливост на стомашно-чревния тракт при всички тествани рН стойности беше демонстрирана и за двете съединения. В заключение, и двете съединения 3a и 3b са силно пропускливи с ниска токсичност и могат да бъдат взети под внимание за по-нататъшна оценка и/или оптимизиране.

3. Gerasimova T, Jovtchev G, Gateva S, Topashka-Ancheva M, Stankov A, Angelova T, Dobрева A, Mileva M*. Study on cytotoxic and genotoxic potential of Bulgarian *Rosa damascena* Mill. and *Rosa alba* L. hydrosols—*in vivo* and *in vitro*. *Life*, 2022;12(9):1452. doi: 10.3390/life12091452.

Abstract: The *Rosa alba* L. and *Rosa damascena* Mill. growing in Bulgaria are known for their extremely fine essential oil and valuable hydrosols. Irrespectively of its wide use in human life, little research exists on the cytotoxic and genotoxic activity of the hydrosols. This set our goal to conduct cytogenetic analyses to study these effects. A complex of classical cytogenetic methods was applied in three types of experimental test systems—higher plant in vivo, ICR mice in vivo, and human lymphocytes in vitro. Mitotic index, PCE/(PCE + NCE) ratio, and nuclear division index were used as endpoints for cytotoxicity and for genotoxicity-induction of chromosome aberrations and micronuclei. Rose hydrosol treatments range in concentrations from 6% to 20%. It was obtained that both hydrosols did not show considerable cytotoxic and genotoxic effects. These effects depend on the type of the tested rose hydrosols, the concentrations applied in the experiments, and the sensitivity and specificity of the test systems used. Human lymphocytes in vitro

were the most sensitive to hydrosols, followed by higher plant and animal cells. Chromosomal aberrations and micronucleus assays suggested that *R. damascena* and *R. alba* hydrosols at applied concentrations possess low genotoxic risk. Due to the overall low values in terms of cytotoxic and/or genotoxic effects in all test systems, hydrosols are promising for further use in various areas of human life.

Абстракт: Растящите в България *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill. са известни с изключително фините си етерични масла и ценни хидрозоли. Независимо от широката им употреба в човешкия живот, съществуват малко изследвания върху цитотоксичната и генотоксичната активност на хидрозолиите. Това постави пред нас целта да проведем цитогенетични анализи, за да проучим тези ефекти. Комплексът от класически цитогенетични методи беше приложен в три вида експериментални тестови системи - висши растения *in vivo*, ICR мишки *in vivo* и човешки лимфоцити *in vitro*. Митотичният индекс, съотношението PCE/(PCE + NCE) и индексът на ядреното делене бяха използвани като крайни точки за цитотоксичност и за генотоксичност - индуциране на хромозомни аберации и микроядра. Концентрациите на розовия хидрозол варират от 6 % до 20 %. Установено е, че и двата хидрозола не показват значителни цитотоксични и генотоксични ефекти. Тези ефекти зависят от вида на тестваните розови хидрозоли, от концентрациите, прилагани в експериментите, и от чувствителността и специфичността на използваните тестови системи. Човешките лимфоцити *in vitro* са най-чувствителни към хидрозолиите, следвани от клетките на висши растения и животни. Тестовите за хромозомни аберации и микроядра показват, че хидрозолиите на *R. damascena* и *R. alba* в прилаганите концентрации притежават нисък генотоксичен риск. Поради общите ниски стойности по отношение на цитотоксичните и/или генотоксичните ефекти във всички тестови системи, хидрозолиите са обещаващи за по-нататъшно използване в различни области на човешкия живот.

4. Vilhelmova-Ilieva N, Petrova Z, Georgieva A, Tzvetanova E, Trepechova M, Mileva M*
Anti-coronavirus efficiency and redox-modulating capacity of polyphenol-rich extracts from traditional Bulgarian medicinal plants. *Life*. 2022 Jul 20;12(7):1088.
<https://doi.org/10.3390/life12071088>

Abstract: Background: The use of various herbal therapists as part of traditional medicine in different parts of the world, including Bulgaria, is due to the knowledge accumulated over the centuries by people about their valuable biological activities. In this study, we investigate extracts from widely used Bulgarian

medicinal plants for their ability to prevent the coronavirus infection of cells by testing different mechanisms of antiviral protection, their polyphenol content, and redox-modulating capacity. **Methods:** The influence on the stage of viral adsorption, the inhibition of extracellular virions, and the protective effect on uninfected cells of the plant's extracts were reported by the end-point dilution method, and virus titer (in Δ Igs) was determined as compared to the untreated controls. The total content of polyphenols and flavonoids was also determined. We tested the antioxidant power of the extracts by their ability to inhibit the generation of superoxide anionic radicals and to scavenge DPPH radicals. We determined their iron-reducing, copper-reducing, and metal-chelating antioxidant powers. **Results:** Most of the extracts tested suppress the extracellular virions of HCov. They also inhibit the stage of viral adsorption to the host cell to varying degrees and have a protective effect on healthy cells before being subjected to viral invasion. The examined extracts contained significant levels of polyphenols and quercetin-like flavonoids and showed remarkable antioxidant, radical, and redox-modulating effects. **Conclusions:** All of these 13 extracts from Bulgarian medicinal plants tested can act as antioxidants and antiviral and symptomatic drugs for the management of coronavirus infection.

Keywords: natural extracts; coronavirus infection; virucidal activity; viral adsorption; antiradical and metal-chelating capacity

Абстракт: Предистория: Използването на различни билкови терапевти като част от традиционната медицина в различни части на света, включително и в България, се дължи на натрупаните през вековете знания на хората за техните ценни биологични свойства. В това проучване изследваме екстракти от широко използвани български лечебни растения за способността им да предотвратяват коронавирусната инфекция на клетките, като тестваме различни механизми на антивирусна защита, съдържанието на полифеноли в тях и редокс-модулиращия им капацитет. **Методи:** Влиянието на екстрактите от растенията върху етапа на вирусна адсорбция, инхибирането на извънклетъчните вириони и защитния ефект върху неинфектираните клетки бяха отчетени чрез метода на крайното разреждане и беше определен титърът на вируса (в Δ Igs) в сравнение с нетретираните контроли. Беше определено и общото съдържание на полифеноли и флавоноиди. Тествахме антиоксидантната сила на екстрактите чрез способността им да инхибират генерирането на супероксидни анионни радикали и да отстраняват DPPH радикали. Определихме желязо-редуциращата, медно-редуциращата и металохелиращата им антиоксидантна сила. **Резултати:** Повечето от тестваните екстракти потискат извънклетъчните вириони на HCov. Те също така потискат в различна степен етапа на адсорбция на вируса към клетката-гостоприемник и имат защитен ефект

върху здрави клетки, преди да бъдат подложени на вирусна инвазия. Изследваните екстракти съдържат значителни нива на полифеноли и кверцетиноподобни флавоноиди и показват забележителни антиоксидантни, радикални и редокс-модулиращи ефекти. Заключение: Всички тези 13 екстракта от български лечебни растения, които бяха изследвани, могат да действат като антиоксиданти и антивирусни и симптоматични лекарства за лечение на коронавирусна инфекция.

Ключови думи: природни екстракти; коронавирусна инфекция; вирусосидна активност; вирусна адсорбция; антирадикалов и металохелиращ капацитет

5. Mileva M*, Dimitrova-Koleva A, Tsvetanova E, Krastev D, Georgieva A, Alexandrova A, Galabov AS. Mitigation of the oxidative damage in liver caused by influenza virus infection in mice by an effective combination of oseltamivir and S-adenosyl-L-methionine (SAM). *J Pharm Nutr Sci* 2022; 12: 128-138. DOI: <https://doi.org/10.29169/1927-5951.2022.12.11>

Abstract: This study aimed to estimate the protective effect of a combination of S-Adenosyl-L-methionine (SAM) as a precursor of glutathione and oseltamivir as a specific inhibitor of virus replication on oxidative damages caused by influenza infection in the liver of infected mice. Albino mice were inoculated with 10×LD50 of influenza virus A/Aichi/2/68(H3N2). Oseltamivir was applied for five days after infection, twice per day, in a dose of 2.5 mg/kg. SAM was applied for ten days in a 100 mg/kg dose, starting five days before inoculation. Markers of oxidative stress, mortality rate, mean survival time, index, and protection coefficient were followed. Influenza infection causes severe oxidative damage to the liver. All combinations of SAM and oseltamivir restored the levels of the biochemical markers to those in healthy animals and improved the virological parameters. A combination of SAM 100 mg/kg and oseltamivir 2.5 mg/kg, which is 1/4 of the optimal therapeutic mice dose, exhibits protection index and affects most effectively all the tested parameters. This study provides an easy-to-apply approach with a good therapeutic potential for co-medicating influenza infection with a specific antiviral agent and an antioxidant precursor.

Абстракт: Целта на това проучване е да се оцени защитният ефект на комбинацията от S-аденозил-L-метионин (SAM) като прекурсор на глутатиона и оселтамивир като специфичен инхибитор на вирусната репликация върху окислителните увреждания, причинени от грипна инфекция в черния дроб на заразени мишки. Мишки албиноси бяха инокулирани с 10×LD50 грипен вирус A/Aichi/2/68(H3N2). Оселтамивир бе прилаган в продължение на пет дни след заразяването, два пъти

дневно, в доза 2,5 mg/kg. SAM се прилагаше в продължение на десет дни в доза 100 mg/kg, като се започва пет дни преди инокулацията. Проследени бяха маркери за оксидативен стрес, смъртност, средно време на преживяване, индекс и коефициент на защита. Инфекцията с грип причинява тежко окислително увреждане на черния дроб. Всички комбинации от SAM и оселтамивир възстановиха нивата на биохимичните маркери до тези при здрави животни и подобриха вирусологичните параметри. Комбинацията от SAM 100 mg/kg и оселтамивир 2,5 mg/kg, която е 1/4 от оптималната терапевтична доза за мишки, показва индекс на защита и повлиява най-ефективно всички изследвани параметри. Това проучване осигурява лесен за прилагане подход с добър терапевтичен потенциал за съвместно лечение на грипна инфекция със специфичен антивирусен агент и антиоксидантен прекурсор.

**6. Petrov L, Alexandrova A, Argirova M, Tomova T, Georgieva A, Tsvetanova E, Mileva M. *
Chromatographic Profile and Redox-Modulating Capacity of Methanol Extract from Seeds of *Ginkgo biloba* L. Originating from Plovdiv Region in Bulgaria. *Life*. 2022;12(6):878.
<https://doi.org/10.3390/life12060878>**

Abstract: Oxidative stress underlies the pathogenesis of many diseases, which determines the interest in natural substances with antioxidant properties. *Ginkgo biloba* L. leaves are well known and widely used in the pharmaceutical industry, but the therapeutic properties of the seeds are less studied. This study aimed to identify the chromatographic profile and to evaluate the antioxidant properties of methanol extract from seeds of *G. biloba* (GBSE). In the GBSE, flavonoids and terpenes were found as terpenes predominated. The GBSE antioxidant capacity determined by 2,2 azino-bis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) and 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) methods were equal to 1.34% and 0.58% of the activity of reference substance Trolox, respectively. The results of the ferric reducing antioxidant power method showed that the effect of concentration 1 mg/mL (*w/v*) GBSE was equal to 7.418 mM FeSO₄ used as a standard. The cupric reducing antioxidant capacity activity of the GBSE was found to be 215.39 μmol Trolox/g GBSE and is presented as Trolox equivalent. The metal chelation effect of 1 mg/mL (*w/v*) GBSE was equal to that obtained for 0.018 mM EDTA. In conclusion, GBSE showed a good ability to neutralize ABTS and DPPH radicals and could have a beneficial effect in pathological conditions with oxidative stress etiology.

Keywords: *Ginkgo biloba* seeds extract; phytochemical profile; antiradical activity; metal-reducing and metal chelating effect

Абстракт: Оксидативният стрес е в основата на патогенезата на много заболявания, което обуславя интереса към природните вещества с антиоксидантни свойства. Листата на *Ginkgo biloba* L. са добре познати и широко използвани във фармацевтичната индустрия, но терапевтичните свойства на семената са по-слабо проучени. Целта на това изследване е да се определи хроматографският профил и да се оценят антиоксидантните свойства на метанолов екстракт от семена на *G. biloba* (GBSE). В GBSE са открити флавоноиди и терпени, като преобладават терпените. Антиоксидантният капацитет на GBSE, определен чрез методите 2,2 азинобис (3-етилбензотиазолин-6-сулфонова киселина) (ABTS) и 1-дифенил-2-пикрилхидразил (DPPH), се равняваше съответно на 1,34% и 0,58% от активността на референтното вещество Trolox. Резултатите от метода на желязоредактиращата антиоксидантна сила показват, че ефектът на концентрацията 1 mg/ml (w/v) GBSE е равен на 7,418 mM FeSO₄, използван като стандарт. Установено е, че активността на медно-редуциращия антиоксидантен капацитет на GBSE е 215,39 μmol Trolox/g GBSE и е представена като еквивалент на Trolox. Металният хелатообразуващ ефект на 1 mg/ml (w/v) GBSE е равен на този, получен за 0,018 mM EDTA. В заключение, GBSE показва добра способност да неутрализира ABTS и DPPH радикалите и може да има благоприятен ефект при патологични състояния с етиология на оксидативен стрес.

Ключови думи: екстракт от семена на *Ginkgo biloba*; фитохимичен профил; антирадикална активност; металоредуциращ и металохелиращ ефект

7. Galabov AS, Mileva M, Simeonova L, Gegova G. Combination activity of neuraminidase inhibitor oseltamivir and α-tocopherol in influenza virus A (H3N2) infection in mice. Antiviral Chemistry & Chemotherapy. 2015 Aug 1;24(3-4):83-91. doi: 10.1177/2040206616656263

Abstract: Background: Influenza is a highly contagious viral infection of the respiratory system. To attack two processes involved in flu pathogenesis—viral replication in the infected body and oxidative damage, we studied the combined effect of neuraminidase inhibitor oseltamivir and antioxidant α-tocopherol in an experimental model of influenza. Methods: After inoculation of albino mice with 10 MLD₅₀ (50% mouse lethal dose) of influenza virus A/Aichi/2/68 (H3N2), oseltamivir was applied orally at three doses, 2.5mg/kg, 1.25mg/kg, and 0.625mg/kg, for five days post-infection. α-Tocopherol (120mg/kg, in sunflower oil) was administered intraperitoneally. Three schemes of α-tocopherol five-day course were tested: onset five or two days before infection, or on the virus inoculation day. Results: Strongly dose-dependent augmented antiviral

effect of the combination of a-tocopherol and 0.625mg/kg oseltamivir was demonstrated when a-tocopherol was administered simultaneously with oseltamivir: a pronounced decrease in mortality rate (a 78% protection), and a lengthening of mean survival time by 3.2–4 days. Lung parameters showed a substantial decrease in infectious virus content ($\log_{10} 3.8/4.1$) and a marked diminishment of lung index and pathology. Combination of a-tocopherol with 1.25mg/kg oseltamivir manifested a marked protective effect, but the effect on lung parameters was less. The combination effect of a-tocopherol with 2.5mg/kg oseltamivir did not surpass the monotherapeutic effect of oseltamivir. When a-tocopherol was applied in courses starting five or two days before infection, its combination with oseltamivir was ineffective. Conclusions: Evidently, a-tocopherol could be considered as a prospective component of influenza therapy in combination with oseltamivir.

Keywords: Drug combination, influenza, virus, infection, animal model

Абстракт: Предистория: Грипът е силно заразна вирусна инфекция на дихателната система. За да атакуваме два процеса, участващи в патогенезата на грипа - вирусната репликация в заразения организъм и оксидативното увреждане, ние проучихме комбинирания ефект на невраминидазния инхибитор оселтамивир и антиоксиданта а-токоферол в експериментален модел на грип. Методи: След инокулиране на мишки албиноси с 10 MLD₅₀ (50 % смъртоносна доза за мишки) на грипен вирус A/Aichi/2/68 (H3N2), оселтамивир беше приложен перорално в три дози - 2,5 mg/kg, 1,25 mg/kg и 0,625 mg/kg, в продължение на пет дни след заразяването. а-токоферол (120 mg/kg, в слънчогледово масло) беше приложен интраперитонеално. Бяха тествани три схеми на петдневния курс с а-токоферол: начало пет или два дни преди инфекцията, или в деня на инокулиране на вируса. Резултати: Силно дозозависим засилен антивирусен ефект на комбинацията от а-токоферол и 0,625 mg/kg оселтамивир беше демонстриран, когато а-токоферол беше приложен едновременно с оселтамивир: ясно изразено намаляване на смъртността (78% защита) и удължаване на средното време за преживяване с 3,2-4 дни. Параметрите на белия дроб показаха значително намаляване на съдържанието на инфекциозния вирус ($\log_{10} 3,8/4,1$) и значително намаляване на белодробния индекс и патология. Комбинацията на а-токоферол с 1,25 mg/kg оселтамивир прояви значителен защитен ефект, но ефектът върху параметрите на белия дроб беше по-слаб. Комбинираният ефект на а-токоферол с 2,5mg/kg оселтамивир не надхвърля монотерапевтичния ефект на оселтамивир. Когато а-токоферол е прилаган на курсове, започващи пет или два дни преди инфекцията,

комбинацията му с оселтамивир е неефективна. Заключение: Очевидно е, че а-токоферол може да се разглежда като перспективен компонент на терапията на грипа в комбинация с оселтамивир.

Ключови думи: Лекарствена комбинация, грип, вирус, инфекция, животински модел

8. Gateva S, Jovtchev G, Angelova T, Dobрева A, Mileva M. * The anti-genotoxic activity of wastewaters produced after water-steam distillation of Bulgarian *Rosa damascena* Mill. and *Rosa alba* L. essential oils. *Life*. 2022; 12(3):455. <https://doi.org/10.3390/life12030455>

Abstract: The steam distillation of valuable rose essential oil from *R. damascena* Mill. and *R. alba* L. generates large volumes of wastewaters. Although such wastewaters are bio-pollutants, they contain valuable bioactive compounds. In this study we investigated the cytotoxic/genotoxic and anti-cytotoxic/anti-genotoxic potential of these products. We used cytogenetic methods for induction of chromosome aberrations and micronuclei in two different experimental test-systems: a higher plant and human lymphocyte cultures. Different experimental schemes of treatment with the waste products showed that the genotoxic activity of wastewater from the distillation of oils from *R. alba* and *R. damascena* was low in both test-systems. Human lymphocytes showed a higher sensitivity to the products than plant cells. Both types of waste products manifested anti-genotoxic effect against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, a direct mutagen. The wastewaters obtained from steam distillation of rose essential oil have cytoprotective/genoprotective effect and could decrease DNA damage. Data are promising for further use of these products in pharmacy and other areas of human life.

Keywords: rose essential oil by-products, ecofriendly products, test-systems, chromosome aberrations, micronuclei

Абстракт: При парната дестилация на ценното етерично масло от роза *R. damascena* Mill. и *R. alba* L. се образуват големи количества отпадъчни води. Въпреки че тези отпадъчни води са биозамърсители, те съдържат ценни биоактивни съединения. В това проучване изследвахме цитотоксичния/генотоксичния и антицитотоксичния/антигенотоксичния потенциал на тези продукти. Използвахме цитогенетични методи за предизвикване на хромозомни аберации и микроядра в две експериментални тестови системи: култури от висши растения и човешки лимфоцити. Различните експериментални схеми за третиране на отпадъчните продукти показаха, че генотоксичната активност на отпадъчните води от дестилацията на масла от *R. alba* и *R. damascena* е ниска и в двете тестови системи. Човешките лимфоцити показаха по-висока чувствителност към продуктите, отколкото

растителните клетки. И двата вида отпадъчни продукти проявяват антигенотоксично действие спрямо N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин, директен мутаген. Отпадъчните води, получени от парна дестилация на етерично масло от роза, имат цитопротективен/генопротективен ефект и могат да намалят увреждането на ДНК. Данните са обещаващи за по-нататъшното използване на тези продукти във фармацията и други области на човешкия живот.

Ключови думи: странични продукти от розово етерично масло, екологични продукти, тестови системи, хромозомни аберации, микроядра

9. Mileva M^{*}, Dimitrova A, Krastev D, Alexandrova A, Tsvetanova E, Georgieva A, Galabov A. Oseltamivir and S-adenosyl-L-methionine combination as effective therapeutic strategy for suppression of oxidative damage in lung caused by influenza virus infection in mice. *Drug Research*. 2020 Jun;70(06):273-9. DOI: 10.1055/a-1147-8824

Abstract: Background and objectives: The pathogenesis of influenza infection is associated with two general processes in the body: (a) lung damage based on virus replication; (b) overproduction of free radicals, antioxidant deficiency, and development of oxidative stress. To attack these aspects of flu pathogenesis, we explored the combined effect of the antiviral agent oseltamivir, and s-adenosyl-L-methionine (SAM) as a precursor of the endogenous antioxidant glutathione, in mice infected with influenza virus.

Methods: After inoculation of albino mice with 10 MLD₅₀ of influenza virus A/Aichi/2/68 (H3N2), oseltamivir was applied twice a day, for five days post-infection in doses of 1.25 and 2.5 mg/kg. SAM was administered once a day for 10 days, starting 5 days before infection in doses of 50, 100 and 150 mg/kg.

Results: Monotherapy with SAM did not influence the markers of oxidative stress in the lung. Combination of SAM 50 mg/kg and oseltamivir 2.5 mg/kg affected best the virological parameters - viral titer, protection index, and mean survival time, as well as the biochemical markers of oxidative stress.

Interpretation and conclusions: Combining of SAM and oseltamivir in a dose of 1/4 of optimal therapeutic could be considered as a perspective therapy of influenza viral infection.

Key words: influenza infection - oxidative stress - antioxidant - glutathione

Абстракт: Контекст и цели: Патогенезата на грипната инфекция се свързва с два общи процеса в организма: (а) увреждане на белия дроб в резултат на репликацията на вируса; (б)

свърхпроизводство на свободни радикали, недостиг на антиоксиданти и развитие на оксидативен стрес. За да атакуваме тези аспекти на патогенезата на грипа, изследвахме комбинирания ефект на антивирусния агент оселтамивир и s-аденозил-L-метионин (SAM) като прекурсор на ендегенния антиоксидант глутатион при мишки, заразени с грипен вирус.

Методи: След инокулиране на мишки албиноси с 10 MLD50 грипен вирус A/Aichi/2/68 (H3N2), оселтамивир се прилага два пъти дневно в продължение на пет дни след заразяването в дози от 1,25 и 2,5 mg/kg. SAM е прилаган веднъж дневно в продължение на 10 дни, започвайки 5 дни преди заразяването, в дози от 50, 100 и 150 mg/kg.

Резултати: Монотерапията със SAM не повлиява маркерите на оксидативния стрес в белия дроб. Комбинацията от SAM 50 mg/kg и оселтамивир 2,5 mg/kg повлия най-добре вирусологичните параметри - вирусен титър, индекс на защита и средно време на преживяване, както и биохимичните маркери на оксидативния стрес.

Интерпретация и заключения: Комбинирането на SAM и оселтамивир в доза 1/4 от оптималната терапевтична може да се разглежда като перспективна терапия на грипната вирусна инфекция.

Ключови думи: грипна инфекция - оксидативен стрес - антиоксидант - глутатион

10. Zaharieva MM, Zheleva-Dimitrova D, Rusinova-Videva S, Ilieva Y, Brachkova A, Balabanova V, Gevrenova R, Kim TC, Kaleva M, Georgieva A, Mileva M. Antimicrobial and Antioxidant Potential of *Scenedesmus obliquus* Microalgae in the Context of Integral Biorefinery Concept. *Molecules*. 2022;27(2):519. <https://doi.org/10.3390/molecules27020519>

Abstract: Small-scale photobioreactors (PBRs) in the inoculum stage were designed with internal (red or green) and external white LED light as an initial step of a larger-scale installation aimed at fulfilling the integral biorefinery concept for maximum utilization of microalgal biomass in a multifunctional laboratory. The specific growth rate of *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing biomass for given cultural conditions was analyzed by using MAPLE software. For the determination of total polyphenols, flavonoids, chlorophyll “a” and “b”, carotenoids and lipids, UHPLC-HRMS, ISO-20776/1, ISO-10993-5 and CUPRAC tests were carried out. Under red light growing, a higher content of polyphenols was found, while the green light favoured the flavonoid accumulation in the biomass. Chlorophylls, carotenoids and lipids were in the same order of magnitude in both samples. The dichloromethane extracts obtained from the biomass of each PBR

synergistically potentiated at low concentrations (0.01–0.05 mg/mL) the antibacterial activity of penicillin, fluoroquinolones, or oregano essential oil against the selected food-borne pathogens (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*) without showing any in vitro cytotoxicity. Both extracts exhibited good cupric ion-reducing antioxidant capacity at concentrations above 0.042–0.08 mg/mL. The UHPLC-HRMS analysis revealed that both extracts contained long chain fatty acids and carotenoids thus explaining their antibacterial and antioxidant potential. The applied engineering approach showed a great potential to modify microalgae metabolism for the synthesis of target compounds by *S. obliquus* with capacity for the development of health-promoting nutraceuticals for poultry farming.

Keywords: photobioreactors; modelling; integral biorefinery concept; *Scenedesmus obliquus*; dichloromethane extracts; food-borne pathogens; drug combinations; oregano oil; antioxidant capacity; in vitro cytotoxicity

Абстракт: Проектирани бяха малки фотобиореактори (PBRs) на етап инокулум с вътрешна (червена или зелена) и външна бяла LED светлина като начална стъпка от по-мощна инсталация, целяща да изпълни концепцията за интегрална биорафинерия за максимално оползотворяване на биомаса от микроводорасли в многофункционална лаборатория. Специфичната скорост на растеж на биомасата на *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing за дадени условия на култивиране беше анализирана с помощта на софтуера MAPLE. За определяне на общото количество полифеноли, флавоноиди, хлорофил "a" и "b", каротеноиди и липиди бяха проведени UHPLC-HRMS, ISO-20776/1, ISO-10993-5 и CUPRAC тестове. При отглеждане на червена светлина беше установено по-високо съдържание на полифеноли, докато зелената светлина благоприятстваше натрупването на флавоноиди в биомасата. Хлорофилите, каротеноидите и липидите са в един и същи порядък и в двете проби. Дихлорметановите екстракти, получени от биомасата на всеки PBR, синергично потенцират в ниски концентрации (0,01-0,05 mg/ml) антибактериалната активност на пеницилин, флуорохинолони или етерично масло от риган срещу избраните хранителни патогени (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*), без да показват цитотоксичност *in vitro*. И двата екстракта показаха добър антиоксидантен капацитет за редуциране на медни йони при концентрации над 0,042-0,08 mg/ml. UHPLC-HRMS анализът показва, че и двата екстракта съдържат дълговерижни мастни киселини и каротеноиди, което обяснява техния антибактериален и антиоксидантен потенциал. Приложеният инженерен подход показва голям потенциал за модифициране на

метаболизма на микроводораслите за синтез на целеви съединения от *S. obliquus* с капацитет за разработване на здравословни нутрацевтични продукти за птицевъдството.

Ключови думи: фотобиореактори; моделиране; интегрална концепция за биорафинерия; *Scenedesmus obliquus*; дихолорметанови екстракти; хранителни патогени; лекарствени комбинации; масло от риган; антиоксидантен капацитет; *in vitro* цитотоксичност

11. **Mileva M***, Ilieva Y, Jovtchev G, Gateva S, Zaharieva MM, Georgieva A, Dimitrova L, Dobreva A, Angelova T, Vilhelmova-Ilieva N, Valcheva V., and Najdenski H. Rose Flowers - A Delicate Perfume or a Natural Healer? *Biomolecules*. 2021 Jan;11(1).

Abstract: Plants from the *Rosacea* family are rich in natural molecules with beneficial biological properties, and they are widely appreciated and used in the food industry, perfumery, and cosmetics. In this review, we are considering *Rosa damascena* Mill., *Rosa alba* L., *Rosa centifolia* L., and *Rosa gallica* L. as raw materials important for producing commercial products, analyzing, and comparing the main biological activities of their essential oils, hydrolates, and extracts. A literature search was performed to find materials describing (i) botanical characteristics; (ii) the phytochemical profile; and (iii) biological properties of the essential oil and extracts of these so called “old roses” that are cultivated in Bulgaria, Turkey, India, and the Middle East. The information used is from databases PubMed, Science Direct, and Google Scholar. Roses have beneficial healing properties due to their richness of beneficial components, the secondary metabolites as flavonoids (e.g., flavones, flavonols, anthocyanins), fragrant components (essential oils, e.g., monoterpenes, sesquiterpenes), and hydrolysable and condensed tannins. Rose essential oils and extracts with their therapeutic properties - as respiratory antiseptics, anti-inflammatories, mucolytics, expectorants, decongestants, and antioxidants - are able to act as symptomatic prophylactics and drugs, and in this way alleviate dramatic sufferings during severe diseases.

Keywords: *Rosa damascena* Mill.; *Rosa alba* L.; *Rosa centifolia* L.; *Rosa gallica* L.; essential oils; water and alcohol extracts; antimutagenic potential; antineoplastic effect; antiviral activity; antioxidant properties

Абстракт: Растенията от семейство *Rosacea* са богати на природни молекули с полезни биологични свойства и са широко ценени и използвани в хранително-вкусовата промишленост, парфюмерията и козметиката. В този обзор разгледахме *Rosa damascena* Mill., *Rosa alba* L., *Rosa centifolia* L. и *Rosa gallica* L. като суровини, важни за производството на търговски продукти, като

анализирахме и сравнихме основните биологични активности на техните етерични масла, хидролати и екстракти. Беше извършено литературно търсене, за да се намерят материали, описващи (i) ботаническите характеристики; (ii) фитохимичния профил; и (iii) биологичните свойства на етерично-маслените екстракти на тези така наречени "стари рози", които се отглеждат в България, Турция, Индия и Близкия изток. Използваната информация е от базите данни PubMed, Science Direct и Google Scholar. Розите притежават полезни лечебни свойства поради богатството си на полезни компоненти, вторични метаболити като флавоноиди (напр. флавони, флавоноли, антоцианини), ароматни компоненти (етерични масла, напр. монотерпени, сесквитерпени) и хидролизируеми и кондензирани танини. Етеричните масла и екстрактите от роза със своите терапевтични свойства като респираторни антисептици, противовъзпалителни средства, муколитици, отхрачващи средства, деконгестанти и антиоксиданти са в състояние да действат като симптоматични профилактични средства и лекарства и по този начин да облекчат драматичните страдания по време на тежки заболявания.

Ключови думи: *Rosa damascena* Mill.; *Rosa alba* L.; *Rosa centifolia* L.; *Rosa gallica* L.; етерични масла; водни и алкохолни екстракти; антимуtagenен потенциал; антинеопластичен ефект; антивирусна активност; антиоксидантни свойства

12. Mileva M^{*}, Dimitrova L, Popova M, Bankova V, Krastev D, Najdenski H, Zhelev Z, Aoki I, Bakalova-Zheleva R. Redox-modulation, Suppression of "Oncogenic" Superoxide and Induction of Apoptosis in Burkitt's Lymphoma Cells Using *Geum urbanum* L. Extracts. *Int. J. Bioautomation*, 2021, 25(4), 315-330 doi: 10.7546/ijba.2021.25.4.000795

Abstract: Burkitt's lymphoma is a highly aggressive type of non-Hodgkin's lymphoma, linked to the Epstein-Barr virus, which induces oxidative stress and DNA damage in the infected cells. We investigated the cytotoxicity and redox-modulating ability of ethyl acetate (EtOAc) and n-butanol (n-BuOH) extracts from *Geum urbanum* L. roots and aerial parts on Burkitt's lymphoma cells (BLC), to elucidate their impact on oxidative stress and cell survival. BLC Raji was treated with EtOAc and n-BuOH extracts to analyze cell viability; induction of apoptosis; hydroperoxides and reactive nitrogen species (RNS) by 2',7'-dichlorodihydrofluorescein assay; superoxide by dihydroethidium assay; total antioxidant capacity by TAC assay. All extracts suppressed cell growth and induced apoptosis. n-BuOH extracts possessed higher cytotoxicity and pro-apoptotic activity compared to EtOAc. The fractions decreased the hydroperoxides and RNS levels. There was no correlation between the DCF fluorescence in the treated cells and their viability (R

= -0.3722; $p > 0.05$). Root extracts decreased the superoxide level, while the leaf extracts did not. There was a good correlation between the dihydroethidium fluorescence in the treated cells and their viability ($R = 0.9843$; $p < 0.01$). All extracts increased the TAC of BLC. *G. urbanum* extracts serve as redox-modulators and anti-inflammatory compounds, decreasing the intracellular level of "oncogenic" superoxide and cell proliferation.

Keywords: Burkitt's lymphoma, Total antioxidant capacity, Reactive oxygen species, Apoptosis, *Geum urbanum* L.

Абстракт: Лимфомът на Буркит е силно агресивен вид Неходжкинов лимфом, свързан с вируса на Епщайн-Барр, който предизвиква оксидативен стрес и увреждане на ДНК в заразените клетки. Ние изследвахме цитотоксичността и редокс-модулиращата способност на етилов ацетат (EtOAc) и n-бутанол (n-BuOH) екстракти от корените и надземните части на *Geum urbanum* L. върху лимфомни клетки на Burkitt (BLC), за да се изясни влиянието им върху оксидативния стрес и оцеляването на клетките. BLC Raji е третирана с EtOAc и n-BuOH екстракти за анализ: клетъчна жизнеспособност; индукция на апоптоза; хидропероксиди и реактивни азотни видове (RNS) чрез 2',7'-дихлородихидрофлуоресцеинов анализ; супероксид чрез дихидроетидиев анализ; общо антиоксидантния капацитет чрез анализ на TAC. Всички екстракти потискат клетъчния растеж и n-BuOH екстракти притежават по-висока цитотоксичност и проапоптотичност в сравнение с EtOAc. Фракциите намаляват нивата на хидропероксидите и RNS. Нямаше корелация между флуоресценцията на DCF в третираните клетки и техните жизнеспособност ($R = -0,3722$; $p > 0,05$). Екстрактите от корени намалиха нивото на супероксида, докато листни екстракти - не. Имаше добра корелация между дихидроетидия в третираните клетки и тяхната жизнеспособност ($R = 0,9843$; $p < 0,01$). Всички екстракти увеличават TAC на BLC. Екстрактите от *G. urbanum* служат като редокс-модулатори и противовъзпалителни съединения, като намаляват вътреклетъчното ниво на "онкогенния" супероксид и клетъчната пролиферация.

Ключови думи: Лимфом на Бъркит, Общ антиоксидантен капацитет, Реактивни кислородни видове, Апоптоза, *Geum urbanum* L.

13. Gateva S, Jovtchev G, Chanev C, Georgieva A, Stankov A, Dobрева A, Mileva M.*
Assessment of anti-cytotoxic, anti-genotoxic and antioxidant potentials of Bulgarian *Rosa alba* L. essential Oil. *Caryologia*. 2020;73(3).

Abstract. Bulgarian *Rosa alba* L. essential oil is widely used in perfumery, cosmetics and pharmacy. The scarce data about its cytotoxic/genotoxic effect and anti-cytotoxic/anti-genotoxic potential gave us a reason to set our aim: i) to study its cytotoxic/ genotoxic activities, iii) to explore its cytoprotective/genoprotective potential against the experimental mutagen N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in two experimental test-systems - barley and human lymphocytes using appropriate endpoints and iii) to assess its antioxidant properties. Findings about chemical composition of rose essential oil would help us to explain its activities. Chromatographic profile of rose essential oil was obtained by Gas Chromatography-Mass Spectrometry and quantification of constituents was done with a Gas Chromatography FID system. Superoxide anion radical scavenging, DPPH inhibition and iron ion chelating activity were used to study a possible antioxidant potential of the rose oil. Its defense potential was investigated by induction of chromosome aberrations and micronuclei in both test-systems. Cytogenetic analysis showed a low cytotoxic effect in both test-systems and no high genotoxic effect in human lymphocytes in vitro in a dose-dependent manner. Rose oil possessed a well-expressed anti-cytotoxic/antigenotoxic potential against MNNG manifested by decreasing both of chromosome aberrations and micronuclei regardless of the experimental schemes used. A well-expressed concentration-dependent free radical scavenging activity of the essential oil was obtained. Current data suggest a promising ethnopharmacological potential of Bulgarian white rose essential oil. Keywords: *Rosa alba* L. essential oil, rose oil components, genotoxicity, anti-cytotoxicity, anti-genotoxicity, antioxidant effect.

Абстракт: Българското етерично масло от *Rosa alba* L. се използва широко в парфюмерията, козметиката и фармацевцията. Оскъдните данни за цитотоксичния/генотоксичния му ефект и антицитотоксичния/антигенотоксичния потенциал ни дадоха основание да си поставим за цел: i) да проучим цитотоксичния/генотоксичния му генотоксично действие, iii) да изследваме цитопротективния/генопротективния му потенциал срещу експерименталния мутаген N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин (MNNG) в две експериментални тестови системи - ечемик и човешки лимфоцити, като се използват подходящи крайни точки, и iii) да се оценят антиоксидантните му свойства. Откритията за химичния състав на етеричното масло от роза ще ни помогнат да обясним неговите активности. Хроматографският профил на етеричното масло от бяла роза беше получен чрез газова хроматография-маспектрометрия а количественото определяне на отделните съставки беше извършено с помощта на система Gas Chromatography FID. Акцептиране на супероксидния анион и DPPH радикали, както и желязо хелатираща активност, показаха добрия антиоксидантен

потенциал на розовото масло. Защитният му потенциал беше изследван чрез индуциране на хромозомни аберации и микроядра в двете тестови системи. Цитогенетичният анализ показа нисък цитотоксичен ефект и в двете тестови системи и отсъствие на генотоксичен ефект върху човешки лимфоцити *in vitro* по дозозависим начин. Розовото масло притежава добре изразен антицитотоксичен/антигенотоксичен потенциал срещу MNNG, проявяващ се чрез намаляване на хромозомните аберации и микроядрата, независимо от използваните експериментални схеми. Добре изразена концентрационна зависимост на етеричното масло по отношение на свободните радикали беше получена. Настоящите данни показват обещаващ етнофармакологичен потенциал на българското етерично масло от бяла роза.

Ключови думи: *Rosa alba* L. етерично масло, компоненти на розовото масло, генотоксичност, антицитотоксичност, антигенотоксичност, антиоксидантно действие.

14. Georgieva A, Dobрева A, Tzvetanova E, Alexandrova A, Mileva M.* Comparative Study of Phytochemical Profiles and Antioxidant Properties of Hydrosols from Bulgarian *Rosa Alba* L. and *Rosa Damascena* Mill. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*. 2019 Sep 3;22(5):1362-71.

Abstract: This study assessed phytochemical profile and antioxidant capacity of hydrosols, obtained by water-steam distillation of *Rosa alba* L. and *Rosa damascena* Mill. plants, grown in experimental field of the Institute of Rose and Essential Oil Plants, Bulgaria. The identification of hydrosols' compounds was performed using 7890A/5975 GC-MS system, the total phenolic content (TPC) was determined quantitatively using the Folin Ciocalteu reagent, with Gallic acid as the standard and the antioxidant capacity of both hydrosols in concentration of 0.3 % up to 15 % were tested in liposomal suspension, and in systems generating either hydroxyl or superoxide anion radicals. The results showed that hydrosols were rich in geraniol (42.55 % for *Rosa alba* L., and 27.25 % for *Rosa damascena* Mill.) and citronellol (28.70 % in both hydrosols). The hydrosolic TPC of *Rosa alba* L. and of *Rosa damascena* Mill. were found to be 72 and 32.52 µg/ml of the Gallic acid equivalent, respectively. Both hydrosols demonstrated good capacity to inhibit Fe²⁺/ascorbic acid - induced lipid peroxidation in egg liposomal model system as the effect of *Rosa alba* L. hydrosol in all tested concentrations was higher than those of *Rosa damascena* Mill. However, *Rosa damascena* Mill. demonstrated better OH^{*} scavenger effect than that of *Rosa alba* L. These results suggest that the hydrosols from *Rosa alba* L. and *Rosa damascena* Mill. have well-expressed antioxidant properties that could be used as antioxidant supplements in conditions with oxidative stress etiology.

Key words: Antioxidant capacity; chromatographic profile; hydrosol; *Rosa alba* L.; *Rosa damascena* Mill.

Абстракт: Това проучване оценява фитохимичния профил и антиоксидантния капацитет на хидрозоли, получени от чрез водно-парна дестилация на растения *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill., отглеждани в експериментално поле в Института по розата и етеричномаслените растения, България. Идентификацията на съединенията на хидрозолиите е извършена с помощта на GC-MS система 7890A/5975, като общото фенолно съдържание (TPC) беше определено количествено с помощта на реактив на Folin Ciocalteu, с галова киселина като стандарт, а антиоксидантният капацитет на двата хидрозола в концентрацията от 0,3 % до 15 % са тествани в липозомна суспензия и в системи, генериращи или хидроксилни и супероксидни анионни радикали. Резултатите показват, че хидрозолиите са богати на гераниол (42,55 % за *Rosa alba* L. и 27,25 % за *Rosa damascena* Mill.) и цитронелол (28,70 % и в двата хидрозола). Хидрозолиите съдържания на TPC в *Rosa alba* L. и на *Rosa damascena* Mill. са установени като 72 и 32,52 µg/ml еквивалент галовата киселина, съответно. И двата хидрозола демонстрират добра способност да инхибират индуцираните от Fe²⁺/аскорбинова киселина липидната пероксидация в яйчна липозомна моделна система, като ефектът на *Rosa alba* L. хидрозол във всички тествани концентрации е по-висок от този на *Rosa damascena* Mill. Въпреки това *Rosa damascena* Mill. демонстрира по-добри резултати като OH[•] скевинджър. Тези резултати показват, че хидрозолиите от *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill. имат добре изразени антиоксидантни свойства, които могат да се използват като антиоксидантни добавки в състояния, свързани с етиология на оксидативен стрес.

Ключови думи: *Rosa alba* L.; *Rosa damascena* Mill.; антиоксидантен капацитет; хроматографски профил; хидрозол

15. Gateva, S., Jovtchev, G., Stankov, A., Georgieva, A., Dobрева, A. and Mileva, M.* 2019. The potential of geraniol to reduce cytotoxic and genotoxic effects of MNNG in plant and human lymphocyte test-systems. *South African Journal of Botany*, 123, pp.170-179.

Abstract: Geraniol is a common component of essential oils of various plant species and is widely used in cosmetics, perfumery, and household products. In the present study, we investigated the cytotoxic, genotoxic and antioxidant activities of different concentrations of the monoterpenoid geraniol and its anti-cytotoxic and anti-genotoxic potential against the genotoxin N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in

higher plant and human lymphocyte test-systems frequently used in genotoxicity studies. The cytogenetic analysis did not show any inhibition of cell viability for geraniol at concentrations 10–100 µg/ml in barley cells. Only low cytotoxicity was observed in human lymphocytes depending on the concentration. No high clastogenicity for human lymphocytes and low enhancement of the frequencies both of chromosome aberrations and micronuclei were detected in barley. Geraniol showed a good radical-scavenging capacity similar to that of butylated hydroxytoluene (BHT), ascorbic acid and α-tocopherol. Geraniol applied at low nontoxic concentrations possessed a clearly expressed genoprotective potential and could inhibit the cytotoxic/genotoxic effects of MNNG reducing both the frequency of chromosome aberrations and micronuclei induced by the genotoxin. The anti-cytotoxic/anti-genotoxic effects were independent of the experimental schemes of treatment and the test-systems. The obtained results will be useful for further investigations concerning the pharmaceutical and medical application of the monoterpenoid geraniol.

Keywords: Geraniol, Antioxidant activity, Anti-cytotoxicity, Anti-genotoxicity test-systems

Абстракт: Гераниолът е често срещан компонент на етеричните масла от различни растителни видове и се използва широко в козметиката, парфюмерията и домакинските продукти. В настоящото проучване изследвахме цитотоксичната, генотоксичната и антиоксидантната активност на различни концентрации на монотерпеноида гераниол и неговия антицитотоксичен и антигенотоксичен потенциал спрямо генотоксина N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин (MNNG) в тестови системи от висши растения и човешки лимфоцити, често използвани при изследвания на генотоксичността. Цитогенетичният анализ не показва инхибиране на клетъчната жизнеспособност от гераниол при концентрации 10-100 µg/ml в клетките на ечемика. Наблюдава се само ниска цитотоксичност при човешките лимфоцити в зависимост от концентрацията. В ечемика не е установена висока кластогенност за човешките лимфоцити и ниско повишаване на честотата на хромозомните аберации и микроядрата. Гераниолът показва добър капацитет за улавяне на радикали, подобен на този на бутилирания хидрокситолуен (BHT), аскорбиновата киселина и α-токоферола. Гераниолът, приложен в ниски нетоксични концентрации, притежава ясно изразен генопротективен потенциал и може да инхибира цитотоксичните/генотоксичните ефекти на MNNG, като намалява както честотата на хромозомните аберации, така и на микроядрата, предизвикани от генотоксина. Антицитотоксичните/антигенотоксичните ефекти са независими от експерименталните схеми на третиране и тестовите системи. Получените резултати ще бъдат полезни за по-нататъшни

изследвания, свързани с фармацевтичното и медицинското приложение на монотерпеноида гераниол.

Ключови думи: Гераниол, антиоксидантна активност, антицитотоксичност, антигенотоксични тестови системи

16. Nocheva H, Krastev NS, Krastev DS, Mileva M.* The Endogenous Cannabinoid and the Nitricoxidergic Systems in the Modulation of Stress Responses. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023 Feb 2;24(3):2886.

Abstract: The effects on stress-induced analgesia (SIA) from endogenous cannabinoid system (ECS) and nitric oxide (NO) interaction after 1 h of restraint stress were evaluated in male Wistar rats. The animals were subjected to 1 h of restraint and then injected with different combinations of cannabinoid receptor type 1 agonist anandamide (AEA) or antagonist AM251 along with an NO donor, NO precursor, or inhibitor of NO synthase. Nociception was evaluated using paw pressure (PP) or hot plate (HP) tests. AEA was administered immediately after the end of restraint-SIA (r-SIA). Administration of NO precursor reversed the pronociceptive effect of the CB1 agonist on r-SIA. Both the CB1 antagonist and the NOS inhibitor neutralized the pro-analgesic effect of L-arginine (L-arg). Administration of an NO donor, instead, increased r-SIA. Our experiments confirmed that the endogenous cannabinoid and the NO-ergic systems interact in the modulation of r-SIA. This interaction probably implies NO as a second messenger of the ECS.

Keywords: anandamide (AEA); nitric oxide (NO); restraint stress (RS); antinociception; paw pressure test; hot plate test

Абстракт: Ефектите върху стрес-индуцираната аналгезия (СИА) от взаимодействието между ендогенната канабиноидна система (ЕКС) и азотния оксид (NO) след 1 час стрес при задържане бяха оценени при мъжки плъхове от породата Wistar. Животните бяха подложени на 1 ч. задържане и след това им бяха инжектирани различни комбинации от агониста на канабиноидния рецептор тип 1 анандамид (AEA) или антагониста AM251 заедно с донор на NO, прекурсор на NO или инхибитор на NO-синтазата. Ноцицепцията беше оценена чрез тестове за натиск върху лапата (PP) или гореща плоча (HP). AEA е приложен непосредствено след края на задържането-SIA (r-SIA). Прилагането на NO прекурсор обърна проноцицептивния ефект на CB1 агониста върху r-SIA. Както CB1 антагонистът, така и инхибиторът на NOS неутрализираха про-аналгетичния ефект на L-аргинин (L-arg). Вместо това прилагането на донор на NO увеличава r-SIA. Нашите експерименти потвърдиха, че ендогенната

канабиноидна и NO-ергичната система си взаимодействат при модулирането на r-SIA. Това взаимодействие вероятно предполага NO като втори посредник на ECS.

Ключови думи: анандамид (AEA); азотен оксид (NO); стрес при ограничаване (PC); антиноцицепция; тест за натиск върху лапата; тест с гореща плоча