

СПИСЪК С РЕЗЮМЕТА НА СТАТИИ НА АНГЛИЙСКИ И БЪЛГАРСКИ ЕЗИК на гл. ас. д-р Лора Симеонова Симеонова

Лаборатория „Експериментална химиотерапия на грип“, Департамент „Вирусология“,
Институт по микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН

за участие в конкурс за заемане на академична длъжност „доцент“ в област на висшето образование 4. Природни науки, Професионално направление 4.3. Биологически науки (специалност Вирусология), обявен в ДВ, бр. 11 от 07.02.2025 г. за нуждите на Лаборатория „Експериментална химиотерапия на грип“, Департамент „Вирусология“, Институт по микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН

Публикациите са разпределени по групи показатели съгласно изискванията на ЗРАСРБ в съответното професионално направление, както следва: общо 20 публикации, 5 включени в група от показатели В, 13 - в група от показатели Г и 2 статии, публикувани в нереферирани списания или сборници с научно рецензиране

I. Резюмета на публикации от група показатели В

1. **Simeonova, L., Galabov, A., Gegova, G.** Prophylactic and Therapeutic Combination Effects of Rimantadine and Oseltamivir against Influenza Virus A (H3N2) Infection in Mice. *Antiviral Research*, 95, 2, Elsevier, 2012, ISSN: 0166-3542, 172-181. DOI:10.1016/j.antiviral.2012.05.004, Q1, (Scopus)

[Линк](#)

Abstract

The combined effect of rimantadine and oseltamivir in a prophylactic context (therapy beginning 4 h previrus infection) and therapeutic context (therapy started at 24 h post-viral inoculation) course on influenza H3N2 virus infection in mice was studied. In the prophylactic course 5 and 10 mg/kg/day rimantadine with 0.2 and 0.4 mg/kg/day (25:1 dose ratio) oseltamivir showed a protection index (PI) of 79.6% and 75%, respectively and a mean survival time (MST) of 13.1 and 12.9 days. The individual effects of the same doses ranged from 0% to 33.3% PI and 8.2 to 10.3 days MST, respectively. Lung virus titers were decreased 630-fold in the combination-treated groups as compared to monotherapy and placebo groups. The reduction of surface lung pathology in combination-treated groups demonstrated a protective effect for the combination of both antivirals. In the therapeutic course 5 and 10 mg/kg rimantadine combined with 0.2 and 0.4 mg/kg oseltamivir showed no beneficial effect. At higher dosage (0.8, 1.6, 3.2 mg/kg oseltamivir and 20, 40, 80 mg/kg rimantadine) preserving the 25:1 ratio, the resultant PI ranged from 57.6% to 80.5% and the MST was 12.8–13.4 days. Used alone at the same doses the compounds' protection varied between 10.7% and 71.8% PI, MST 9.8–12.8 days (8.7 days in PBS control). Compared to vehicle and individual treatment, a decrease in infectious viral titers of up to 1000-fold and other viral pneumonia parameters were also recorded. The therapeutic effect of the drugs' optimal effective doses combinations was characterized as synergistic. Survival of animals was 81.2–100% and MST was extended by 5–7 days compared to placebos. Monotherapy protection was from 9.1% to a maximum of 56.5%, MST being prolonged only by 1.3–4.2 days compared to 7.5 days in the PBS control group. Lung viral titers were decreased 1445-fold for the most efficacious combination groups and a significant reduction in lung parameters was observed. These data emphasize that prophylactic and therapeutic courses using a

combination of oseltamivir and rimantadine have a significant protective effect in mice experimentally infected with drug-sensitive influenza virus A (H3N2)

Keywords: Influenza Rimantadine Oseltamivir Combination therapy Mice

Резюме:

Изследван е комбинираният ефект на римантадин и оселтамивир в профилактичен курс (терапия с начало 4 часа преди вирусна инфекция) и терапевтичен курс (с начало 24 часа след вирусна инокулация) спрямо инфекция с грипен H3N2 вирус при мишки. В профилактичния курс 5 и 10 mg/kg/ден римантадин с 0,2 и 0,4 mg/kg/ден (дозово съотношение 25:1) оселтамивир показва индекс на защита (PI) от 79,6% и 75% съответно и средно време на преживяване (MST) от 13,1 и 12,9 дни. Индивидуалните ефекти на същите дози варираха съответно от 0% до 33,3% PI и 8,2 до 10,3 дни MST. Титрите на белодробния вирус бяха намалени 630 пъти в групите, лекувани с комбинация, в сравнение с групите на монотерапия и плацебо. Намаляването на белодробната патология в комбинирано лекуваните групи демонстрира защитен ефект за комбинацията от двете антивирусни средства. В терапевтичния курс 5 и 10 mg/kg римантадин, комбиниран с 0,2 и 0,4 mg/kg оселтамивир не показва благоприятен ефект. При по-високи дози (0,8, 1,6, 3,2 mg/kg оселтамивир и 20, 40, 80 mg/kg римантадин), запазвайки съотношението 25:1, резултантният PI варираше от 57,6% до 80,5%, а MST е 12,8–13,4 дни. Използвани самостоятелно в същите дози, защитата на съединенията беше между 10,7% и 71,8% PI, MST 9,8–12,8 дни (8,7 дни при PBS контрола). В сравнение с плацебо и индивидуалното лечение, беше регистрирано също намаляване на инфекциозните вирусни титри до 1000 пъти и други параметри на вирусна пневмония. Терапевтичният ефект на комбинациите от оптимални ефективни дози на лекарствата се охарактеризира като синергичен. Преживяемостта на животните беше 81,2–100%, а MST удължен с 5–7 дни в сравнение с плацебо. Защитата при монотерапия беше от 9,1% до максимум 56,5%, като MST се удължи само с 1,3–4,2 дни в сравнение със 7,5 дни в контролната група на PBS. Белодробните вирусни титри бяха намалени 1445 пъти за групите с най-ефикасна комбинация и беше наблюдавано значително намаляване на белодробните поражения. Тези данни подчертават, че профилактичният и терапевтичният курс на комбинация от оселтамивир и римантадин, имат значителен защитен ефект при мишки, експериментално заразени с чувствителен към лекарствата грипен вирус А (H3N2)

Ключови думи: Грип Римантадин Оселтамивир Комбинирана терапия Мишки

2. Galabov, A.S., 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 and Chemotherapy*, 24, 3-4, SAGE Publications Inc., 2015, ISSN: 0956-3202, 83-91. DOI: 10.1177/2040206616656263 Q2 (Scopus) [Линк](#)

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 damages, we studied the combination effect of neuraminidase inhibitor oseltamivir and antioxidant α -tocopherol in 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, 2.5 mg/kg, 1.25 mg/kg, and 0.625 mg/kg, for five days post infection. α -Tocopherol (120 mg/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 α -tocopherol and 0.625 mg/kg oseltamivir was demonstrated when α -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 ($\Delta\log 3.8/4.1$) and a marked diminishment of lung index and pathology. Combination α -tocopherol with 1.25 mg/kg oseltamivir manifested a marked protective effect, but the effect on lung parameters was less. The combination effect of α -tocopherol with 2.5 mg/kg oseltamivir did not surpass the monotherapeutic effect of oseltamivir. When α -tocopherol was applied in courses starting five or two days before infection, its combination with oseltamivir was ineffective.

Conclusions: Evidently, α -tocopherol could be considered as prospective component of influenza therapy in combination with oseltamivir.

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

Резюме

Предпоставки за изследването: 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 оксидативните увреждания, изследвахме комбинирания ефект на инхибитора на невраминидазата оселтамивир и антиоксиданта α -токоферол в експериментален модел на грип.

Методи: След инокулиране на бели мишки с 10 MLD₅₀ (50% летална доза за мишки) с грипен вирус A/Aichi/2/68 (H3N2), оселтамивир беше прилаган перорално в три дози—2.5 mg/kg, 1.25 mg/kg и 0.625 mg/kg, в продължение на пет дни след инфекцията. α -Токоферол (120 mg/kg, в слънчогледово масло) беше прилаган интраперитонеално. Бяха тествани три схеми на петдневен курс с α -токоферол: начало на лечението пет или два дни преди инфекцията или в деня на вирусната инокулация.

Резултати: Демонстриран беше подчертано дозозависим антивирусен ефект от комбинацията на α -токоферол и 0.625 mg/kg оселтамивир, когато α -токоферол се прилагаше едновременно с оселтамивир: отчетено беше изразено намаляване на смъртността (78% защита) и удължаване на средното време на преживяемост с 3.2–4 дни. Параметрите на белите дробове показаха значително намаляване на инфекциозния вирусен товар ($\Delta\log = 3.8/4.1$) и ясно изразено намаляване на белодробния индекс и патологията. Комбинацията на α -токоферол с 1.25 mg/kg оселтамивир прояви силен защитен ефект, но влиянието върху белодробните параметри беше по-слабо. Комбинацията на α -токоферол с 2.5 mg/kg оселтамивир не надмина монотерапевтичния ефект на оселтамивир. Когато α -токоферол беше прилаган в курсове, започващи пет или два дни преди инфекцията, неговата комбинация с оселтамивир беше неефективна.

Заклучение: Очевидно е, че α -токоферол може да се разглежда като перспективен компонент в терапията на грипа в комбинация с оселтамивир.

Ключови думи: Комбинация от лекарства, грип, вирус, инфекция, животински модел

3. Pavlova, E., Zografov, N., Simeonova, L.S. Comparative Study on the Antioxidant Capacities of Synthetic Influenza Inhibitors and Ellagic Acid in Model Systems. Biomedicine & Pharmacotherapy, 83, Elsevier Masson SAS, 2016, ISSN: 0753-3322, 755-762. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.07.046, Q2 (Scopus) [Линк](#)

Abstract

This study compares the antioxidant capacities in vitro of several synthetic and natural compounds applied and researched for influenza treatment – oseltamivir, isoprinosine, ellagic acid, vitamin E and vitamin C. Three

chemical systems are utilized for the generation of reactive oxygen species (ROS) at pH 7.4 and pH 8.5: (1) Fenton's ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$) for OH and OH species (2) H_2O_2 (3) NADH phenazinemethosulfat, for superoxide radicals ($\text{O}_2^\cdot$).

The kinetics was evaluated by lucigenin-enhanced chemiluminescence. The calculated constants of inhibition k_7 describe the antioxidant capacity at the moment of oxidative burst. Their values do not necessarily correspond to the calculated total antioxidant activity.

The obtained results revealed that the synthetic anti-influenza drugs (oseltamivir and isoprinosine) as well as ellagic acid possess pronounced scavenging properties mostly against superoxide radicals, comparable and higher than that of traditional natural antioxidants. Quantitative analysis of the antioxidant effects of the examined synthetic substances was performed. The results compared the corresponding effect of the average physiological concentrations and the applied therapeutic antioxidant dose. With these experiments we registered new aspects of their therapeutic activities, due to antioxidant properties against hydroxyl, superoxide radicals and H_2O_2 oxidation.

Keywords: Oseltamivir Isoprinosine Ellagic acid Vitamin E Vitamin C Luminescence Constant of inhibition

Резюме

Това проучване сравнява антиоксидантния капацитет *in vitro* на няколко синтетични и природни съединения, прилагани и изследвани за лечение на грип – оселтамивир, изопринозин, елагова киселина, витамин Е и витамин С. Бяха използвани три химични системи за генериране на реактивни кислородни видове (ROS) при pH 7,4 и pH 8,5: (1) Fenton ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$) за OH и OH видове (2) H_2O_2 (3) NADH феназинметосулфат, за супероксидни радикали ($\text{O}_2^\cdot$).

Кинетиката се оценяваше чрез усилена с луцигенин хемилуминесценция. Изчислените константи на инхибиране k_7 описват антиоксидантния капацитет в момента на окислителен взрив. Техните стойности не отговарят непременно на изчислената обща антиоксидантна активност.

Получените резултати показват, че синтетичните противогрипни лекарства (оселтамивир и изопринозин), както и елаговата киселина притежават изразени очистващи свойства предимно срещу супероксидни радикали, сравними и по-високи от тези на традиционните естествени антиоксиданти. Извършен е количествен анализ на антиоксидантните ефекти на изследваните синтетични вещества. Резултатите сравняват съответния ефект на средните физиологични концентрации и приложената терапевтична доза антиоксидант. С тези експерименти ние регистрирахме нови аспекти на техните терапевтични действия, дължащи се на антиоксидантни свойства срещу хидроксилни, супероксидни радикали и окисление на H_2O_2 .

Ключови думи: Оселтамивир Изопринозин Елагова киселина Витамин Е Витамин С Луминесценция Константа на инхибиране

4. Mancheva, K., Danova, S., Vilhelмова-Ilieva, N., Dobrev, L., Kostova, K., **Simeonova, L.**, Atanasov, G. Viral Pathogens with Economic Impact in Aquaculture. Acta Microbiologica Bulgarica, 37, 3, Bulgarian Society for Microbiology (Union of Scientists in Bulgaria), 2021, ISSN: 0204-8809, 111-121. Q4 (Scopus) [Линк](#)

Abstract

Intensive fish farming provides an increasing part of the human diet and is a major economic resource in many countries. Keeping a large number of animals together increases the risk of disease outbreaks, including viral infections. This paper aims to provide a general overview of up-to-date information on the most common viral

pathogens causing serious economic losses in fish farming, with a focus on the main aquaculture farming species grown in our country: common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758), European catfish (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758), pikeperch (*Sander lucioperca* Linnaeus, 1758), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt and Ratzeburg, 1833), etc. Despite the lack of sustainable antiviral drugs suitable for aquatic environment, fish farming is a fast-growing economic sector that needs well-thought-out combinations of immunostimulants, antiviral drugs and/or vaccination. Good management practices could reduce the number of viral outbreaks or even provide solid protection against viral diseases and could enhance the sustainable growth of fish farming by contributing to the welfare of wild fish populations.

Keywords: fish viral pathogens, fish viral diseases, high mortality, DNA viruses, RNA viruses

Резюме

Интензивното развъждане на риба осигурява все по-голяма част от храната на човечеството и е основен икономически ресурс в много страни. Отглеждането на голям брой животни заедно, увеличава риска от огнища на заболявания, включително вирусни инфекции. Тази статия има за цел да представи обобщен преглед на актуалната информация за най-честите вирусни патогени, причиняващи сериозни икономически загуби в рибовъдството, с акцент върху основните аквакултури, отглеждани в страната ни: обикновен шаран (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758), европейски сом (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758), бяла риба (*Sander lucioperca* Linnaeus, 1758), дъгова пъстърва (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), руска есетра (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt and Ratzeburg, 1833) и др. Въпреки липсата на устойчиви антивирусни лекарства, подходящи за водна среда, рибовъдството е бързо развиващ се икономически сектор, който показва необходимостта от добре обмислени комбинации от имуностимуланти, антивирусни препарати и/или ваксинация. Добрите практики на управление могат да намалят броя на вирусните огнища или дори да осигурят солидна защита срещу вирусни заболявания и биха могли да увеличат устойчивото развитие на рибовъдния сектор и да сътрудничат за опазване здравето на популациите на дива риба.

Ключови думи: вирусни патогени по рибите, вирусни заболявания по рибите, висока смъртност, ДНК вируси, РНК вируси

5. Pavlova, E.L., Simeonova, L.S., Gegova, G. Combined Efficacy of Oseltamivir, Isoprinosine and Ellagic acid in Influenza A (H3N2)-infected Mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 98, Elsevier Masson SAS, ISSN: 0753-3322, DOI:10.1016/j.biopha.2017.12.014, 2018, 29-35. Q1, (Scopus) [Линк](#)

Abstract

Influenza pathogenesis comprises a complex cascade of impaired cellular processes resulting from the viral replication and exaggerated immune response accompanied by reactive oxygen species (ROS) burst and oxidative stress, destructing membranous structures and tissues. By classical virological and biochemical methods we compared and evaluated the therapeutic effects of 2.5 mg/kg/day of the antiviral drug – oseltamivir (OS), 500 mg/kg/day of the immune modulator – isoprinosine (IP) and 500 mg/kg/day of the antioxidant agent ellagic acid (EA) with a focus on their combined activities in influenza H3N2 virus-infected mice. The survival, lung pathology and titers, as well as the oxidative stress biomarker thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in the lungs, liver and blood plasma, correlated to the activities of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and glutathione reductase (GR) were assessed.

We found that the viral inhibitor applied together with the immune modulator and the antioxidant exhibited strong therapeutic effects on the survival of the influenza-challenged mice. That effect was mostly pronounced for the triple combination – protection index (PI) of 75.2%, mean survival time (MST) extended by 5.8 days

compared to the PBS control and significant reduction of the lung titers by 1.38 Δlg; 2.3 scores lower lung pathology and 8 times reduction of the accumulated TBARS in the lungs and liver on the 5-th day p.i. The enzymatic assays revealed that this combination demonstrated very good protection against the damaging superoxide radicals (83% efficiency of SOD, in comparison to healthy controls 100%). The double combinations of OS with IP and EA also showed protective effects according to the virological analysis – PI of 53.1% and 54.5%. Ten times higher GR activity was observed when the combination EA + OS and monotherapy of EA were applied (96% in comparison to healthy controls 100%). The best antioxidant effect in blood plasma was observed in the EA + IP group – 4 times reduction in the TBARS-content compared to infected controls but it did not have any efficacy on the survival and lung injury

Keywords: Influenza Oxidative stress Oseltamivir Isoprinosine Ellagic acid

Резюме

Патогенезата на грипа включва сложна каскада от нарушени клетъчни процеси, резултат от вирусната репликация и свръхактивния имунен отговор, съпроводени от прекомерна продукция на реактивни кислородни видове (ROS) и оксидативен стрес, водещи до разрушаване на мембранни структури и тъкани. Чрез класически вирусологични и биохимични методи сравнихме и оценихме терапевтичните ефекти на 2.5 mg/kg/ден от антивирусния препарат – оселтамивир (OS), 500 mg/kg/ден от имуномодулатора – изопринозин (IP) и 500 mg/kg/ден от антиоксиданта елагова киселина (EA), с акцент върху тяхното комбинирано действие при мишки, заразени с грипен вирус H3N2. Бяха оценени преживяемостта, белодробната патология и вирусните титри, както и биомаркери за оксидативен стрес – тиобарбитурова киселина-реактивни субстанции (TBARS) в белите дробове, черния дроб и кръвната плазма, в корелация с активността на антиоксидантните ензими супероксиддисмутаза (SOD) и глутатионредуктаза (GR).

Установихме, че вирусният инхибитор, прилаган заедно с имуномодулатора и антиоксиданта, показва силен терапевтичен ефект върху преживяемостта на заразените мишки. Този ефект беше най-силно изразен при тройната комбинация – индекс на защита (PI) от 75.2%, удължаване на средното време на преживяемост (MST) с 5.8 дни в сравнение с PBS контрола, значително намаляване на белодробните титри с 1.38 Δlg, намаляване на белодробната патология с 2.3 точки и осемкратно редуциране на натрупаните TBARS в белите дробове и черния дроб на 5-ия ден след инфекцията. Ензимните анализи показаха, че тази комбинация демонстрира много добра защита срещу увреждащите супероксидни радикали (83% ефективност на SOD, в сравнение със 100% при здравите контроли). Двойните комбинации OS+IP и OS+EA също показаха защитни ефекти според вирусологичния анализ – PI съответно от 53.1% и 54.5%. Десетократно по-висока активност на GR беше наблюдавана при прилагане на комбинацията EA+OS и при монотерапията с EA (96% в сравнение със 100% при здравите контроли). Най-добрият антиоксидантен ефект в кръвната плазма беше наблюдаван в групата EA+IP – четирикратно намаляване на TBARS-съдържанието в сравнение с инфектираните контроли, но тази комбинация не прояви ефективност върху преживяемостта и белодробните увреждания.

Ключови думи: Грип, Оксидативен стрес, Оселтамивир, Изопринозин, Елагова киселина

II. Резюме на публикации от група показатели Г:

6. **Simeonova, L., Mukova, L., Gegova, G., Galabov, A.S., van der Werf, S.** Susceptibility to Neuraminidase Inhibitors and M2 Blockers of Seasonal Influenza Strains Isolated in Bulgaria 2004-2007. *Acta Microbiologica Bulgarica*, 4, Press Product Line, 2018, ISSN: 0204-8809, DOI: 10.1016/j.antiviral.2011.03.069, 209-219 Q4 (Scopus) [Линк](#)

Abstract

M2 blockers and neuraminidase inhibitors (NAIs) are two classes of drugs currently approved for prophylaxis and treatment of seasonal influenza A virus infections. The frequency of antiviral drug resistance has increased dramatically over the last 20 years, therefore monitoring of susceptibility to licensed inhibitors should be an essential component of influenza surveillance and therapy in Bulgaria and worldwide.

Classical and molecular techniques were used to evaluate the susceptibility of influenza (H1N1) and (H3N2) strains isolated in Bulgaria 2004-2007 to neuraminidase inhibitors and M2 blockers. IC₅₀ values of rimantadine were determined by CPE inhibition in cell cultures. IC₅₀ of NAIs were evaluated fluorimetrically by neuraminidase susceptibility assay with MUNANA substrate. RT-PCR and sequencing were carried out on gene segments HA, NA and M2 with subsequent phylogenetics analysis using the neighbor-joining method and bootstrap analysis. Of the total 26 influenza strains (H1N1) and (H3N2) analyzed, 22 were sensitive and 4 (two H1N1 and two H3N2) were resistant to rimantadine hydrochloride in CPE inhibition assay. 17 isolates were subjected to a fluorescent assay, which showed the IC₅₀ of zanamivir to range from 1.05 nM to 5.28 nM and that of oseltamivir IC₅₀ were - from 0.28 nM to 1.31 nM. Sequencing revealed S31N and V27T mutations in transmembrane region of the M2 protein to confer resistance to adamantanes in the A/Sofia/1250 (H3N2) strain. The virus remained susceptible to neuraminidase inhibitors. In all other viruses analyzed no mutations associated with resistance to either M2 blockers or NAIs were found.

Keywords: influenza, susceptibility, Bulgaria, rimantadine, oseltamivir, zanamivir

Резюме

M2 блокерите и неврамнидазните инхибитори (НАИ) са два класа антивирусни средства понастоящем одобрени за профилактика и лечение на сезонен грип А. Степента на резистентност към тези препарати е нарастнала драстично през последните 20 години и затова мониторингът на чувствителността към лицензираните препарати трябва да е съществен компонент в лечението на грипа в България и по света.

Използвахме класически и молекулярни техники за оценка на чувствителността на щамове грипни вируси (H1N1) и (H3N2), изолирани в България 2004-2007 г. към инхибитори на неврамнидазата и M2 блокери. IC₅₀ стойностите на римантадин се определяха чрез инхибиция на ЦПЕ в клетъчни култури. IC₅₀ на НАИ бяха оценени флуорометрично чрез анализ на неврамнидаза чувствителност с MUNANA субстрат. Бяха извършени RT-PCR и секвениране за анализ на генни сегменти HA, NA и M2 с последваща филогенетика, в която приложихме neighbor-joining метод и bootstrap анализ. От общо 26 грипни щам (H1N1) и (H3N2) 22 бяха чувствителни и 4 (два H1N1 и два H3N2) бяха резистентни към римантадин хидрохлорид в постановка на инхибиране на ЦПЕ. 17 изолата бяха подложени на флуоресцентен анализ като IC₅₀ на занамивир варираше от 1.05 nM до 5.28 nM, и за оселтамивир IC₅₀ бяха от 0.28 nM до 1.31 nM. Секвенирането показва S31N и V27T мутации в трансмембрания регион на M2 протеин, отговорни за резистентност към адамантани в А/София /1250 (H3N2) щам. Вирусът бе със запазена чувствителност към НАИ. При всички други вируси не бяха открити мутации, свързани с резистентност към M2 блокери или инхибитори на неврамнидазата.

7. Pavlova, E., **Simeonova, L.**, Serkedjieva, J. Antioxidant Activities of Geranium sanguineum L. Polyphenolic Extract in Chemiluminescent Model Systems. Inorganic Chemistry Communications, 108, Elsevier, 2019, ISSN: 1387-7003, DOI: 10.1016/j.inoche.2019. 107518107518. Q2 (Scopus)
[Линк](#)

Abstract

The aim of this study is to assess the antioxidant activities of Geranium sanguineum polyphenolic extract in chemiluminescent model systems by calculating the constants of inhibition towards different reactive oxygen species (ROS). The kinetics of lucigenin-enhanced chemiluminescence was examined in three chemical systems designed for generation of ROS ($\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2) and in one system with FeSO_4 added as a chelator. Antioxidant enzyme activities of superoxide dismutase and glutathione reductase were also evaluated. All the calculated constants of inhibition were compared to vitamin C and vitamin E values obtained earlier. Based on the results we can make the following major conclusions:

- 1) the polyphenol complex reacts against all studied ROS ($\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2) with various efficacy. It exerts lower anti-oxidant effects when compared to standards such as vitamin C and vitamin E.
- 2) the polyphenol complex has pronounced chelation properties against Fe^{2+} , which is of extreme biological importance.
- 3) The reference concentration (0.1 mg/ml) is most appropriate for therapeutic purposes.

All obtained data contribute to the elucidation on the therapeutic and prophylactic reactive mechanisms of polyphenols extracted from Geranium sanguineum L.

Keywords: Polyphenols Antioxidants Reactive oxygen species Superoxide dismutase Glutathione reductase Chemiluminescence

Резюме

Целта на това изследване беше да се определи антиоксидантната активност на полифенолен екстракт от *Geranium sanguineum* в хемилуминесцентни моделни системи чрез изчисляване на константите на инхибиране към различни реактивни кислородни видове (ROS). Кинетиката на луцигенин-усилената хемилуминисценция беше изследвана в три химични системи, предназначени за генериране на ROS ($\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2), както и в една система с добавен FeSO_4 като хелатор.

Оценена беше и антиоксидантната активност на ензимите супероксиддисмутаза и глутатионредуктаза. Всички изчислени константи на инхибиране бяха сравнени със стойностите на витамин С и витамин Е, получени по-рано. Въз основа на резултатите могат да се направят следните основни изводи:

1. Полифенолният комплекс реагира срещу всички изследвани ROS (H_2O_2 , $\text{OH}\cdot$, $\text{O}_2^{\cdot-}$) с различна ефективност, като проявява по-слаби антиоксидантни ефекти в сравнение със стандартите витамин С и витамин Е.
2. Полифенолният комплекс има изразени хелиращи свойства спрямо Fe^{2+} , което е от изключителна биологична значимост.
3. Референтната концентрация (0,1 mg/ml) е най-подходяща за терапевтични цели.

Всички получени данни допринасят за изясняването на терапевтичните и профилактичните механизми на полифенолите, извлечени от *Geranium sanguineum* L.

Ключови думи: Полифеноли, Антиоксиданти, Реактивни кислородни видове, Супероксиддисмутаза, Глутатионредуктаза, Хемилуминисценция.

8. Vilhelmova, N., **Simeonova, L.**, Nikolova, N., Pavlova, E., Gospodinova, Z., Antov, G., Galabov, A., Nikolova, I. Antiviral, Cytotoxic and Antioxidant Effects of *Tanacetum vulgare* L. Crude Extract in vitro. *Folia Medica*, 62, 1, 2020, ISSN: 0204-8043, DOI: 10.3897/folmed.62.e49370, 172-179. Q4 (Scopus) [Линк](#)

Abstract

Introduction: Due to the high prevalence of viral infections having no specific treatment and the constant emergence of resistant viral strains, searching for effective antiviral compounds is crucial. The present study explores in vitro the antiviral activity of ethanolic extract from aerial parts of *Tanacetum vulgare* L. against viral strains of three taxonomic groups, including agents that cause socially significant diseases in humans for which antiviral chemotherapy is indicated, namely coxsackievirus B1 (family Picornaviridae), herpes simplex virus type 1 (family Herpesviridae) and influenza A virus (family Orthomyxoviridae).

Aim: The aim of the current study was to evaluate antiviral activity of ethanolic extract from herbaceous plant *Tanacetum vulgare* L. against some important human viruses for which antiviral chemotherapy is needed and to characterize extract for its antioxidant activity in vitro.

Materials and methods: The crude aqueous ethanolic extract from aerial parts of *Tanacetum vulgare* L. contained flavonoids determined as apigenin, coumarins determined as aesculin, tannic compounds determined as tannin, and others. Antiviral activity of ethanolic extract from herbaceous plant *Tanacetum vulgare* L. against coxsackievirus B1, influenza A and herpes simplex virus type 1 was evaluated by viral yield reduction technique. The total antioxidant activity was determined by measuring the capacity of the sample to inhibit the generation of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS).

Results: The results show that the extract has the lowest toxicity on the MDBK cell line and similar cytotoxicity in Hep-2, whereas in the MDCK cells it has more than twice the highest toxicity. Testing the antiviral activity of *Tanacetum vulgare* L. extract revealed a slight inhibition of replication of HSV-1 with a selective index of 7.07 and IAV/H3N2 (SI = 3.69) but no specific antiviral effect against CVB1 replication was found. The evaluation of the antioxidant activity showed great antioxidant activity of the ethanolic extract from *T. vulgare* – 26 mmol/l for the applied 20 mg/ml extract.

Conclusion: The crude extract from aerial parts of the medicinal plant *Tanacetum vulgare* L. demonstrated low cytotoxicity in Hep-2, MDBK and moderate cytotoxic effects in MDCK cells. It exerted significant antiviral activity against HSV-1 as determined by the recorded inhibition of viral replication, the blockage of virus entry - absorption stage and direct virucidal effects on extracellular virions. The observed effect when testing *Tanacetum*'s extract on influenza A H3N2 virus infection in vitro was milder, which probably resulted from the interference with the cellular pathways involved in the replication cycle. The presence of virucidal and adsorption-suppressing activity but the absence of viral replication inhibitory effects against CBV-1 suggests a possible interaction of the extract's components with viral capsid proteins or related cell receptors.

Keywords: antioxidant activity, CVB1, H3N2, HSV-1, *Tanacetum vulgare* L.

Резюме

Въведение: Поради широкото разпространение на вирусни инфекции, за които няма специфично лечение и появата на резистентни вирусни щамове, търсенето на ефективни антивирусни съединения е от решаващо значение. Настоящото изследване проучва in vitro антивирусната активност на етанолов екстракт от надземни части на *Tanacetum vulgare* L. срещу вирусни щамове от три таксономични групи, включително агенти, които причиняват социално значими заболявания при хора, за които е показана антивирусна химиотерапия, а именно коксаки вирус В1 (семейство Picornaviridae), херпес симплекс вирус тип 1 (семейство Herpesviridae) и вирус на грип А (семейство Orthomyxoviridae).

Цел: Целта на настоящото проучване е да се оцени антивирусната активност на етанолов екстракт от тревистото растение *Tanacetum vulgare* L. срещу важни човешки вируси, за които е необходима антивирусна химиотерапия, и да се характеризира екстрактът за неговата антиоксидантна активност *in vitro*.

Материали и методи: Суровият водно-етанол екстракт от надземни части на *Tanacetum vulgare* L. съдържа флавоноиди, определени като апигенин, кумарини, определени като ескулин, танинови съединения, определени като танин и др. Антивирусната активност на етанолов екстракт от тревистото растение *Tanacetum vulgare* L. срещу коксакивирус В1, грип А и вирус на херпес симплекс тип 1 беше оценена чрез оценка на потискането на вирусния добив. Общата антиоксидантна активност се определи чрез измерване на капацитета на пробата да инхибира генерирането на реактивни вещества на тиобарбитурова киселина (TBARS).

Резултати: Резултатите показаха, че екстрактът има най-ниска токсичност върху клетъчната линия MDBK и подобна цитотоксичност при Нер-2, докато в клетките MDCK има повече от два пъти по-висока токсичност. Тестването на антивирусната активност на екстракта от *Tanacetum vulgare* L. разкри слабо потискане на репликацията на HSV-1 със селективен индекс 7,07 и IAV/H3N2 (SI = 3,69), но не беше открит специфичен антивирусен ефект срещу репликацията на CVB1. Оценката на антиоксидантната активност показва висока стойност на етаноловия екстракт от *T. vulgare* – 26 mmol/l за приложените 20 mg/ml екстракт.

Заключение: Суровият екстракт от надземни части на лечебното растение *Tanacetum vulgare* L. показва ниска цитотоксичност при Нер-2, MDBK и умерени цитотоксични ефекти при MDCK клетки. Той проявява значителна антивирусна активност срещу HSV-1, както се определя от регистрираното инхибиране на вирусната репликация, блокирането на навлизането на вируса - етапа на абсорбция и директните вирусцидни ефекти върху извънклетъчните вириони. Наблюдаваният ефект при тестване на екстракта от *Tanacetum* върху инфекция с вируса на грип А H3N2 *in vitro* е по-слаб, което вероятно е резултат от намесата в клетъчните пътища, включени в цикъла на репликация. Наличието на вирусцидна и потискаща адсорбцията активност, но липсата на инхибиторни ефекти върху вирусната репликация срещу CBV-1 предполага възможно взаимодействие на компонентите на екстракта с вирусни капсидни протеини или свързани клетъчни рецептори.

Ключови думи: антиоксидантна активност, CVB1, H3N2, HSV-1, *Tanacetum vulgare* L.

9. Vilhelmova-Ilieva, N., Atanasov, G., **Simeonova, L.**, Dobрева, L., Mancheva, K., Trepechova, M., Danova, S. Anti-Herpes Virus Activity of Lactobacillus' Postbiotics. BioMedicine (Taiwan), 12, 1, China Medical University, 2022, ISSN:2211-8039, DOI:10.37796/2211-8039.1277, 21-29. Q3 (Scopus) [Линк](#)

Abstract

Background: Recently various lactic acid bacteria (LAB) and their post-metabolites have shown many positive effects on human and animal welfare. They appear to be beneficial in different disorders and pathological conditions, including in a broad-spectrum of infectious diseases.

Aim: To estimate *in vitro* the anti-herpes simplex activity of 11 postbiotic samples (lysates or cell-free supernatants - CFS) produced during the fermentation of six candidate-probiotic Lactobacillus strains isolated from Bulgarian fermented milk products.

Materials and methods: In vitro protocols for assessment of different LAB samples on the Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) replication, adsorption and virucidal effects were applied using MDBK cells.

Results: Four of the studied LAB samples expressed a statistically significant inhibition of the replication of HSV-1. The highest selective index (79.75) was calculated for the post-metabolites of *Lactiplantibacillus plantarum*, followed by a high molecular fraction of cell-derived fragments of *Limosilactobacillus fermentum* culture (S6) (SI $\frac{1}{4}$ 34.63), CFS from late exponential *L. plantarum* (SI $\frac{1}{4}$ 28.26) and neutralized CFS from *L. fermentum* (SI $\frac{1}{4}$ 28.11). Pronounced virucidal activities of the postbiotics S1, S11 (*L. fermentum*), S3 (*L. plantarum*) and S6 (*L. fermentum*) were recorded, too. The inhibitory effect of the majority of the samples on the stage of adsorption of the virus to MDBK cells was remarkable. In addition, almost all of the postbiotics exerted a protective effect on healthy cells and significantly reduced viral yield at subsequent infection.

Conclusion: Pre-selected *Lactobacillus* strains demonstrated strain-specific effects against HSV-1. These postbiotics influence different stages of viral infection in cell cultures and their promising characteristics are currently evaluated.

Keywords: Antiviral activity, Herpes simplex virus type 1, *Lactobacillus* probiotics, Postbiotics

Резюме

Предпоставки за изследването: Напоследък различни млечно-кисели бактерии (LAB) и техните постметаболити показват много положителни ефекти върху човешкото и животинското здраве. Те изглеждат благоприятни при различни нарушения и патологични състояния, включително при широк спектър от инфекциозни заболявания. Цел: Да се оцени *in vitro* антивирусната активност срещу *Herpes simplex* вирус тип 1 (HSV-1) на 11 постбиотични проби (лизати или клетъчно-свободни супернатанти – CFS), получени по време на ферментацията на шест пробиотични щамове *Lactobacillus*, изолирани от български ферментирани млечни продукти.

Материали и методи: Бяха приложени *in vitro* протоколи за оценка на влиянието на различни проби от LAB върху репликацията, адсорбцията и вируцидният ефект на HSV-1, използвайки MDBK клетки. Резултати: Четири от изследваните проби на LAB показаха статистически значима инхибиция на репликацията на HSV-1. Най-висок селективен индекс (SI = 79.75) беше изчислен за постметаболитите на *Lactiplantibacillus plantarum*, следван от високомолекулната фракция на клетъчни фрагменти от културата на *Limosilactobacillus fermentum* (S6) (SI = 34.63), CFS от късноекспоненциалната фаза на *L. plantarum* (SI = 28.26) и неутрализиран CFS от *L. fermentum* (SI = 28.11). Изразена вируцидна активност беше отчетена също при постбиотиците S1, S11 (*L. fermentum*), S3 (*L. plantarum*) и S6 (*L. fermentum*). Забележителен беше инхибиторният ефект на повечето проби върху етапа на адсорбция на вируса към MDBK клетките. Освен това почти всички постбиотици проявиха защитен ефект върху здравите клетки и значително намалиха вирусния титър при последваща инфекция. Заключение: Предварително избраните *Lactobacillus* щамове демонстрираха щам-специфични ефекти срещу HSV-1. Тези постбиотици влияят на различни етапи от вирусната инфекция в клетъчни култури и техните обещаващи характеристики в момента се оценяват.

Ключови думи: Антивирусна активност, *Herpes simplex* вирус тип 1, *Lactobacillus* пробиотици, Постбиотик

10. Arabadzhieva, R., Ivanov, I., Petkova, N., Todorova, M., Tumbarski, Y., Vlaeva, I., Vilhelmova-Ilieva, N., Nikolova, I., **Simeonova, L.** Microwave-Assisted Synthesis of Lactose Acetates with Antimicrobial, Cytotoxic and Antiviral Properties. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12, 6, 2022, ISSN: 2069-5837, DOI:10.33263/BRIAC126.84538470, 8453-8470. Q3 (Scopus) [Линк](#)

Abstract

The task of this study was to perform the "green" synthesis of lactose octaacetate through microwave irradiation and to establish their biological activities. Lactose ester was prepared after microwave-assisted esterification of lactose with acetic anhydride (yield 85-90 %). Lactose octaacetate was characterized by a high degree of acetylation (DS 3.2-3.7). The lactose esters' structure was elucidated by infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance spectroscopy. Lactose octaacetate showed better antifungal activities than antibacterial activities. It possessed slight to moderate antifungal activities against *Aspergillus niger* ATCC 1015, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium moniliforme* ATCC 38932. Lactose acetates demonstrated low cytotoxicity against three cell lines: Madin-Darby bovine kidney (MDBK) cells, human epithelial type 2 (HEp-2), and Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells. This is the first report for antiviral activity of lactose acetates against herpes simplex virus type 1 (HSV-1), influenza virus A/Panama/2007/99/H3N2 - (IAV/H3N2), PV-1 and Coxsackievirus B1. It was found that this compound showed activity with SI = 2.4 only against PV-1, but against HSV-1, IAV/H3N2, and Coxsackievirus B1 was inactive. The current study demonstrated the applications of lactose acetates as antimicrobial and antiviral substances in food, pharmaceutical, agricultural and cosmetic preparations.

Keywords: lactose octaacetates; microwave irradiation; antimicrobial properties, antiviral activity

Резюме

Задачата на това изследване беше да се извърши "зелен" синтез на лактоза октаацетат чрез микровълново облъчване и да се установи тяхната биологична активност. Лактозният естер беше получен след микровълнова естерификация на лактоза с оцетен анхидрид (добив 85-90 %). Лактозният октаацетат се характеризира с висока степен на ацетилиране (DS 3.2-3.7). Структурата на лактозните естери беие изяснена чрез инфрачервена спектроскопия и с ядрено-магнитен резонанс. Лактозният октаацетат показва по-добро фунгицидно от антибактериално действие. Притежава лека до умерена противогъбична активност срещу *Aspergillus niger* ATCC 1015, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium moniliforme* ATCC 38932. Лактозните ацетати демонстрираха ниска цитотоксичност срещу три клетъчни линии: клетки от говежди бъбрек Madin-Darby (MDBK), човешки епител тип 2 (HEp-2) и Кучешки бъбречни клетки на Madin-Darby (MDCK). Това е първото изследване за антивирусна активност на лактозни ацетати срещу херпес симплекс вирус тип 1 (HSV-1), грипен вирус A/Panama/2007/99/H3N2 - (IAV/H3N2), PV-1 и Coxsackievirus B1. Установено е, че това съединение показва активност с SI = 2,4 само срещу PV-1, но срещу HSV-1, IAV/H3N2 и Coxsackievirus B1 е неактивен. Настоящото проучване демонстрира приложенията на лактозните ацетати като антимикробни и антивирусни вещества в хранителни, фармацевтични, селскостопански и козметични препарати.

Ключови думи: лактоза октаацетати; микровълново облъчване; антимикробни свойства, антивирусна активност

11. Saralieva, E., Dincheva, I., Tumbarski, Y., Petkova, N., Vilhelmova-Ilieva, N., Nikolova, I., Simeonova, L., Ivanov, I.. Chemical Composition, Antibacterial, Antiviral, Antioxidant, and Acetylcholinesterase Inhibitory Properties of Essential Oils from *Carlina acanthifolia* All. roots. Journal of Essential Oil-Bearing Plants, Taylor & Francis, 2022, ISSN: 0972-060X, DOI:10.1080/0972060X.2022.2133973, Q2 (Scopus) [Линк](#)

Abstract: The investigation aimed to reveal the chemical composition, antioxidant activities, antibacterial, antiviral, and acetylcholinesterase inhibitory properties of the essential oil of *Carlina acanthifolia* All. roots. Essential oil was produced by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). In the essential oil eight compounds were found. Polyacetylene benzyl-2-furylacetylene (carlina oxide (89.36%) was found as the main constituent. There were also found sesquiterpenes farnesol (Z,E), farnesol (Z,Z), trans- β -farnesene, α -curcumene, γ -curcumene, β -sesquiphellandrene, and benzaldehyde. The *Carlinae* radix essential oil possessed a strong radical scavenging ability IC₅₀ 86.20 μ g/mL (ABTS method). Essential oil showed antimicrobial activity against *Bacillus cereus* (MIC 0.313 μ g/mL), *Staphylococcus aureus* (MIC 1.25 μ g/mL), *Listeria monocytogenes* (MIC-5.0 μ g/mL), *Proteus vulgaris* (MIC 0.625 μ g/mL), *Salmonella enteritidis* (MIC-5.0 μ g/mL), *Candida albicans* (MIC 1.25 μ g/mL) and *Escherichia coli* (MIC 5.0 μ g/mL). Investigated essential oil showed significant acetylcholinesterase inhibitory activity (IC₅₀ 0.28 μ g/mL) in comparison to galanthamine. An essential oil from *Carlina acanthifolia* demonstrated antiviral effect on human poliovirus-1 (LSc-2ab) by inhibiting the adsorption of the viral particles on the cell lines (Human epithelial type 2). The pharmacological activities demonstrated by the essential oil from *C. acanthifolia* radix showed its potential application as a remedy or its impact on human health and nutrition.

Keywords: Antimicrobial activity, antiviral activity, antioxidant activity, *Carlina acanthifolia* All.

Резюме

Изследването има за цел да разкрие химичния състав, антиоксидантната активност, антибактериалните, антивирусните и ацетилхолинестеразните инхибиторни свойства на етеричното масло от *Carlina acanthifolia* All. корени. Етеричното масло се получи чрез хидродестилация и се анализира чрез газова хроматография-маспектрометрия (GC/MS). В етеричното масло са открити осем съединения. Като основна съставка е доказан полиацетилен бензил-2-фурилацетилен (карлина оксид (89,36%). Открити са също сесквитерпени фарнезол (Z,E), фарнезол (Z,Z), транс- β -фарнезен, α -куркумен, γ -куркумен, β -сескифеландрен и бензалдехид. Етеричното масло от корен притежава силна способност за улавяне на радикали IC₅₀ 86,20 μ g/mL (метод ABTS). Етеричното масло показва антимикробна активност срещу *Bacillus cereus* (MIC 0.313 μ g/mL), *Staphylococcus aureus* (MIC 1.25 μ g/mL), *Listeria monocytogenes* (MIC-5.0 μ g/mL), *Proteus vulgaris* (MIC 0.625 μ g/mL), *Salmonella enteritidis* (MIC-5.0 μ g/mL), *Candida albicans* (MIC 1.25 μ g/mL) and *Escherichia coli* (MIC 5.0 μ g/mL). Изследваното етерично масло показва значителна инхибиторна активност на ацетилхолинестераза (IC₅₀ 0,28). μ g/mL) в сравнение с галантамин. Етерично масло от *Carlina acanthifolia* демонстрира антивирусен ефект върху човешкия полиовирус-1 (LSc-2ab) чрез инхибиране на адсорбцията на вирусните частици върху клетъчните линии (човешки епител тип 2). Фармакологичната активност, демонстрирана от етеричното масло от *C. acanthifolia* radix, показва потенциалното му приложение като лечебно средство или въздействието му върху човешкото здраве и хранене.

Ключови думи: Антимикробна активност, антивирусна активност, антиоксидантна активност, *Carlina acanthifolia* All.

12. Vilhelmova-Ilieva N., Danova S., Petrova Z., Dobрева L., Atanasov G., Mancheva K., **Simeonova L.** Protective and Therapeutic Capacities of Lactic Acid Bacteria Postmetabolites against Koi Herpesvirus Infection in Vitro. *Life*, 13, (3), MDPI, 2023, DOI: 10.3390/13030739, ISSN: 2075-1729, 739. **Q2 (Scopus)** [Линк](#)

Abstract

Background: The accumulation of data on beneficial biological effects of probiotics and their metabolic products favors their potential use in the prevention and treatment of various malaises. **Methods:** Nine postmetabolites from Lactic acid bacteria (LAB) of human or dairy origin and their antiviral activity were studied using the cytopathic effect inhibition test. The virucidal capacity, their influence on the adsorption stage of Koi herpes virus (KHV) and their preventive role against subsequent viral challenge on intact Common carp brain (CCB) cells were also determined by titration assay. Residual viral infectivity in postmetabolites-treated samples was compared to mocktreated controls and Dlg's were calculated. **Results:** When administered during KHV replication, the microbial products isolated from *Lactiplantibacillus plantarum* showed remarkable activity with a selectivity index (SI) between 26.5 and 221.4, as those effects were dependent on the sample virus incubation time. Postmetabolites from *Lactobacillus gasseri* and *Lactiplantibacillus plantarum* also demonstrated significant inhibition of KHV replication with SI of 24 and 16, respectively. The bioactive metabolites isolated from *Limosilactobacillus fermentum* had a minor effect on the viral replicative cycle. Compounds, produced during the fermentation by lactobacilli, grown on different nutritive media and collected at different time points, significantly inhibited extracellular KHV virions. All investigated postmetabolites remarkably blocked KHV attachment to the host cell (CCB), leading to a drop in viral titers by Dlg = 4.25–5.25, and exerted protective effects on CCB cells before they were subjected to viral infection. **Conclusions:** Our results open new horizons and promote LAB and their postbiotic products to be used in the prophylaxis and therapy of viral infections.

Keywords: LAB; probiotics; postmetabolites; Koi herpes virus; antiviral activity; cell protection

Резюме

Предпоставки за изследването: Натрупването на данни за полезните биологични ефекти на пробиотиците и техните метаболитни продукти благоприятства потенциалната им употреба в профилактиката и лечението на различни заболявания. **Методи:** Девет постметаболизма от млечнокисели бактерии (LAB) от човешки или млечен произход и тяхната антивирусна активност са изследвани с помощта на теста за инхибиране на цитопатичния ефект. Вируцидният капацитет, тяхното влияние върху етапа на адсорбция на Кoi херпес вирус (KHV) и тяхната превантивна роля срещу последващо вирусно заразяване в здрави мозъчни клетки на обикновен шаран (CCB) също бяха определени чрез титрация. Остатъчната вирусна инфекциозност в пробите, третирани с постметаболизми, беше сравнена с нетретирани контроли и бяха изчислени Dlg's. **Резултати:** Когато се прилагат по време на KHV репликация, микробните продукти, изолирани от *Lactiplantibacillus plantarum*, показват забележителна активност с индекс на селективност (SI) между 26,5 и 221,4, тъй като тези ефекти зависят от времето на инкубация на вируса на пробата. Постметаболитите от *Lactobacillus gasseri* и *Lactiplantibacillus plantarum* също показват значително инхибиране на репликацията на KHV със SI от 24 и 16, съответно. Биоактивните метаболити, изолирани от *Limosilactobacillus fermentum*, имат незначителен ефект върху репликативния цикъл на вируса. Съединенията, произведени от лактобацили по време на ферментацията, отглеждани върху различни хранителни среди и събрани в различни времеви точки, значително инхибират извънклетъчните KHV вириони. Всички изследвани постметаболизми

забележително блокират прикрепването на KHV към клетката гостоприемник (CCB), което води до спад на вирусните титри с $Dlg = 4, 25-5, 25$ и упражняват защитни ефекти върху клетките на CCB, преди да бъдат подложени на вирусна инфекция. Заключение: Нашите резултати откриват нови хоризонти и насърчават използването на LAB и техните постбиотични продукти в профилактиката и терапията на вирусни инфекции.

Ключови думи: LAB; пробиотици; постметаболити; Кои херпес вирус; антивирусна активност; клетъчна защита

13. Antov G., Vilhelmova-Ilieva N., Nikolova M., Nikolova I., **Simeonova L.**, Grozdanov P., Krasteva M., Vladimirova A., Gospodinova Z.. In Vitro Evaluation of Anticancer, Antiviral and Antioxidant Properties of an Aqueous Methanolic Extract of *Rhus Typhina* L. Leaves. International Food Research Journal, 30, 3, Universiti Putra Malaysia, 2023, ISSN: 1985-4668, DOI:10.47836/ifrj.30.3.19, 774-782. Q3 (Scopus) [Линк](#)

Abstract

In recent decades, natural products of plant origin have predominated among the sources of new therapeutic agents. Plants, which are intensively used in folk medicine, are the focus of particular interest, and being subjected to in-depth analyses for the assessment of their pharmacological properties. The objective of the present work was to evaluate the *in vitro* anticancer, antiviral, and antioxidant properties of a crude aqueous methanolic extract from the leaves of *Rhus typhina* L., which is a plant species with broad applications in traditional phytotherapy. The anticancer capacity of the extract was assessed on two human breast cancer cell lines (MCF7 and MDA-MB-231) using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) cell proliferation assay, and its cell growth inhibitory effect on cancer cells was compared with its action on a noncancerous breast epithelial cell line (MCF10A). Moreover, the *in vitro* antiviral activity of the plant extract was studied against viral strains of three taxonomic groups: herpes simplex virus type 1 (HSV-1), coxsackievirus B1 (CVB1), and influenza A virus (IAV/H3N2) using a cytopathic effect inhibition test, extract cytotoxicity evaluation through the neutral red uptake assay, a virucidal assay, a viral attachment assay, and cell pre-treatment with the extract. In turn, a radical scavenging assay with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) was applied to explore the antioxidant potential of *R. typhina* leaf extract. Results indicated that the plant extract possessed antiproliferative activity against the tested cell lines which was stronger toward cancer cells. A modest inhibitory effect on IAV/H3N2 replication was detected; as well as on an effect on herpes virions and on the adsorption of the HSV-1 and IAV/H3N2 strains; and a protective effect on uninfected cells before HSV-1 contact. The leaf extract of *R. typhina* also exhibited a strong free radical scavenging activity. The results of the present work demonstrated the pharmacological potentials of the plant extract, which warrants further and more detailed study in the future

Keywords: *Rhus typhina* L., *in vitro* study, anticancer potential, antiviral properties, antioxidant effect

Резюме:

През последните десетилетия природни продукти с растителен произход преобладават сред източниците на нови терапевтични средства. Растенията, които се използват интензивно в народната медицина, са в центъра на специален интерес и се подлагат на задълбочени анализи за оценка на техните фармакологични свойства. Целта на настоящата работа беше да се оцени *ин витро* антиканцерогенният, антивирусният и антиоксидантният ефект на суров метанолов екстракт от листата на *Rhus typhina* L., което е вид растение с широки приложения в традиционната фитотерапия. Антиканцерогенният капацитет на екстракта беше оценен върху две човешки клетки на рак на гърдата (MCF7 и MDA-MB-

231), като беше използван тестът за пролиферация на клетки с 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолиум бромид (МТТ), а ефектът му върху инхибирането на растежа на клетките на рак беше сравнен с действието му върху нехимически клетъчни линии на епителни клетки на гърдата (MCF10A). Освен това, ин витро антивирусната активност на растителния екстракт беше изследвана срещу вирусни щамове от три таксономични групи: херпес симплекс вирус тип 1 (HSV-1), коксаки вирус В1 (CVB1) и вирус на грип А (IAV/H3N2), като беше използван тест за инхибиране на цитопатичния ефект, оценка на цитотоксичността на екстракта чрез метода за усвояване на неутрален червен, вирусоциден тест, тест за привързване на вируси и предварително третиране на клетките с екстракта. От своя страна, метод за улавяне на радикали с 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил (DPPH) беше приложен за изследване на антиоксидантния потенциал на екстракта от листа на *R. typhina*. Резултатите показаха, че растителният екстракт притежава антипролиферативна активност срещу изследваните клетъчни линии, като ефектът беше по-силен върху раковите клетки. Беше утвърден умерен инхибиторен ефект върху репликацията на IAV/H3N2, както и ефект върху вирусите на херпес и върху адсорбцията на щамове HSV-1 и IAV/H3N2, както и защитен ефект върху неинфектираните клетки преди контакт с HSV-1. Екстрактът от листа на *R. typhina* също така показва силна активност за улавяне на свободни радикали. Резултатите от настоящото изследване демонстрират фармакологичния потенциал на растителния екстракт, което предполага провеждането на допълнителни и по-задълбочени изследвания в бъдеще.

Ключови думи: *Rhus typhina* L., in vitro изследване, антиканцерогенен потенциал, антивирусни свойства, антиоксидантен ефект

14. Ivanova, N., Ermenlieva, N., **Simeonova, L.**, Kolev, I., Slavov, I., Karashanova, D., Andonova, V. Chlorhexidine–Silver Nanoparticle Conjugation Leading to Antimicrobial Synergism but Enhanced Cytotoxicity. *Pharmaceutics*, 15, 9, MDPI, 2023, ISSN: 1999-4923, DOI: 10.3390/pharmaceutics15092298, 2298. Q1, (Scopus) [Линк](#)

Abstract: This study explored the potential synergism within chlorhexidine–silver nanoparticle conjugates against Influenza type A, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans*. Silver nanoparticles (SN) were obtained by the reduction of silver ions with green tea total phenolic extract and conjugated with chlorhexidine (Cx). The particles were characterized by UV-Vis and FTIR spectroscopies, dynamic light scattering, X-ray diffraction, and transmission electron microscopy. A stable negatively charged nano-silver colloid ($\zeta = -50.01$) was obtained with an average hydrodynamic diameter of 92.34 nm. In the presence of chlorhexidine, the spectral data and the shift of the zeta potential to positive values ($\zeta = +44.59$) revealed the successful sorption of the drug onto the silver surface. The conjugates (SN-Cx) demonstrated potentiation in their effects against *S. aureus* and *C. albicans* and synergism against *E. coli* with minimal inhibitory concentrations of SN at 5.5 $\mu\text{g/mL}$ + Cx 8.8 $\mu\text{g/mL}$. The SN showed excellent virucidal properties, increasing with time, and demonstrated low toxicity. However, the coupling of the cationic chlorhexidine with nano-silver did not reduce its intrinsic cytotoxicity on various cell lines (MDCK, BJ, and A549). The newly synthesized antimicrobial agent exhibited an extended and promising therapeutic spectrum and needs to be further evaluated regarding the designated route of administration in three-dimensional cell models (e.g., nasal, bronchial, dermal, ocular, etc.).

Keywords: silver nanoparticles; chlorhexidine; conjugation; complexation; surface functionalization; nano-scaled drug delivery; antimicrobial synergism; antiviral activity; *Camellia sinensis* catechins; green synthesis

Резюме: Това проучване изследва потенциалния синергизъм на конюгати на хлорхексидин–сребърни наночастици срещу грипел вирус тип А, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*. Сребърните наночастици (SN) бяха получени чрез редукция на сребърни йони с общ фенолен екстракт от зелен чай и конюгирани с хлорхексидин (Сх). Частиците бяха характеризирани чрез UV-Vis и FTIR спектроскопии, динамично разсейване на светлината, рентгенова дифракция и трансмисионна електронна микроскопия. Получен е стабилен, отрицателно зареден наноколоид със сребро ($\zeta = -50,01$) със среден хидродинамичен диаметър от 92,34 nm. В присъствието на хлорхексидин спектралните данни и изместването на зета потенциала към положителни стойности ($\zeta = +44,59$) потвърдиха успешната сорбция на лекарството върху сребърната повърхност. Конюгатите (SN-Сх) демонстрираха потенциране на ефектите си срещу *S. aureus* и *C. albicans*, както и синергизъм срещу *E. coli*, с минимални инхибиторни концентрации на SN от 5,5 $\mu\text{g/mL}$ + Сх 8,8 $\mu\text{g/mL}$. SN проявиха отлични вирсоуцидни свойства, които се засилваха с времето, и показаха ниска токсичност. Въпреки това, свързването на хлорхексидин със сребърните наночастици не намали неговата вътрешноприсъща цитотоксичност върху различни клетъчни линии (MDCK, BJ и A549). Новосинтезираният антимикробен агент демонстрира разширен и обещаващ терапевтичен спектър и трябва да бъде допълнително оценен по отношение на предназначения начин на приложение в триизмерни клетъчни модели (напр. назален, бронхиален, дермален, очен и др.).

Ключови думи: сребърни наночастици; хлорхексидин; конюгация; комплексообразуване; повърхностна функционализация; наноразмерна доставка на лекарства; антимикробен синергизъм; антивирусна активност; катехини от *Camellia sinensis*; зелена синтеза.

15. Mancheva, K., Danova, S., Vilhelmova-Ilieva, N., **Simeonova L.**, Dobрева, L., Atanasov, G.. Koi Herpesvirus Highlights and Potential of Probiotics to Reduce or Even to Prevent Koi Herpesvirus Infection. Acta Microbiologica Bulgarica, 39, 2, Bulgarian Society for Microbiology, 2023, ISSN: 0204-8809, DOI: 10.59393/amb23390203, 111-117. Q4 (Scopus) [Линк](#)

Abstract

Koi herpesvirus (KHV) is a highly contagious virus that causes high morbidity and mass mortality of koi carp (*Cyprinus rubrofasciatus* Lacepède, 1803), common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) and its ornamental (coloured) varieties. Koi herpesvirus disease (KHVD) is one of the major factors that cause significant economic losses affecting both wild and cultured populations of common and koi carp worldwide. It is thought that there is no effective treatment for KHVD. The usage of vaccines for aquatic animals and water environments is limited, associated with the risk of viral reactivation and reversion to virulence. In Europe, for example, no commercial vaccine for KHVD is available. On the other side, probiotic additives are one of the most prospective, promising, and safe alternatives of drugs, that provide fish health benefits such as improvement of fish immune resistance and increased growth performance. This paper provides a thoroughgoing analysis of the knowledge about Koi herpesvirus and the disease, its distribution, and conventional treatment methods. We discuss the potential of probiotics for improvement of growth rate and carp immune resistance, associated with the fish mucosal immune system as the first immune barrier.

Keywords: Koi herpesvirus (KHV), koi herpesvirus disease (KHVD), common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758), koi carp (*Cyprinus rubrofasciatus* Lacepède, 1803), probiotics.

Резюме

Koi herpesvirus е силно заразен вирус, който причинява висока заболяемост и масова смъртност при Кои шараните (*Cyprinus rubrofasciatus* Lacepède, 1803), обикновен шаран (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

и неговите декоративни (цветни) разновидности. Кой херпес вирусната болест е един от основните фактори, които причиняват значителни икономически загуби, засягащи както дива, така и култивирани популации на шаран в световен мащаб. Смята се, че няма ефективно лечение на болестта. Употребата на ваксини за водни животни и водна среда е ограничена, което е свързано с риска от реактивиране на вируса и реверсия към вирулентност. В Европа, например, няма налична търговска ваксина за Кой херпес вирусна болест. От друга страна, пробиотичните добавки са една от най-перспективните, обещаващи и безопасни алтернативи на лекарствата, които осигуряват ползи за здравето на рибите, като подобряване на имунната им устойчивост и ускорен растеж. Тази статия представя задълбочен анализ на знанията за Koi herpesvirus и заболяването, която причинява, разпространението му и някои от конвенционалните методи за лечение. Разглеждаме потенциала на пробиотиците за подобряване скоростта на растеж и имунната резистентност на шарана, свързани с лигавичната чревна имунната система като първа имунна бариера при рибите

16. Danova, S., Dobрева, L., Mancheva, K., Atanasov, G., **Simeonova L.**, Vilhelmova-Ilieva N. Lactobacilli-Derived Postmetabolites Are Broad-Spectrum Inhibitors of Herpes Viruses In Vitro. *Int. J. Mol. Sci.*, 26, 74, MDPI, 2025, ISSN: 1661-6596, DOI: 10.3390/ijms26010074, 2-15. Q1, (Scopus) [Линк](#)

Abstract: Herpes viruses are highly contagious agents affecting all classes of vertebrates, thus causing serious health, social, and economic losses. Within the One Health concept, novel therapeutics are extensively studied for both veterinary and human control and management of the infection, but the optimal strategy has not been invented yet. Lactic acid bacteria are key components of the microbiome that are known to play a protective role against pathogens as one of the proposed mechanisms involves compounds released from their metabolic activity. Previously, we reported the anti-herpes effect of postmetabolites isolated from Lactobacilli, and here, we confirm the inhibitory properties of another nine products against the phylogenetically distant human Herpes simplex virus-1 (HSV-1) and fish Koi Herpes virus (KHV) in cell cultures. Cytotoxicity, cytopathic effect inhibition, virucidal effect, the influence on the adsorption stage of the virus to the cells, as well as the protective effect of the postmetabolites on healthy cells were evaluated. The inhibitory effect was more pronounced against HSV-1 than against KHV at all studied viral cycle stages. Regarding the intracellular replicative steps, samples S7, S8, and S9 (Mix group) isolated from *Ligilactobacillus salivarius* (vaginal strain) demonstrated the most distinct effect with calculated selective indices (SIs) in the range between 69.4 and 77.8 against HSV-1, and from 62.2 to 68.4 against KHV. Bioactive metabolites from various LAB species significantly inhibit extracellular HSV-1 and, to a lesser extent, KHV virions. The blockage of viral adsorption to the host cells was remarkable, as recorded by a decrease in the viral titer with $\Delta \lg \geq 5$ in the Mix group for both herpes viruses. The remaining postmetabolites also significantly inhibited viral adsorption to varying degrees with $\Delta \lg \geq 3$. Most metabolites also exerted a protective effect on healthy MDBK and CCB cells to subsequent experimental viral infection. Our results reveal new horizons for the application of LAB and their postbiotic products in the prevention and treatment of herpes diseases.

Keywords: antiviral activity; herpes simplex virus type 1; Koi herpes virus; viral replication; virucidal effect; viral adsorption; Lactobacillus probiotics; postbiotics

Резюме: Херпесните вируси са силно заразни агенти, засягащи всички класове гръбначни животни, като по този начин причиняват сериозни здравни, социални и икономически щети. В рамките на концепцията „One Health“ нови терапевтични средства се изследват активно както за ветеринарен, така и за хуманен контрол и управление на инфекцията, но оптимална стратегия все още не е открита. Млечнокиселите

бактерии са ключови компоненти на микробиома, известни със своята защитна роля срещу патогените, като един от предложените механизми включва съединения, отделяни в резултат на тяхната метаболитна активност. По-рано съобщихме за антихерпесния ефект на постметаболити, изолирани от *Lactobacilli*, а в тази статия потвърждаваме инхибиторните свойства на още девет продукта срещу филогенетично отдалечените човешки Herpes simplex virus-1 (HSV- 1) и рибния Koi Herpes virus (KHV) в клетъчни култури. Бяха оценени цитотоксичността, инхибирането на цитопатичния ефект, вируцидният ефект, влиянието върху стадия на адсорбция на вируса към клетките, както и защитният ефект на постметаболитите върху здрави клетки. Инхибиторният ефект беше по-изразен срещу HSV-1, отколкото срещу KHV на всички изследвани етапи от вирусния цикъл. Относно вътреклетъчните репликативни етапи, пробите S7, S8 и S9 (Mix група), изолирани от *Ligilactobacillus salivarius* (вагинален шам), демонстрираха най-силно изразен ефект с изчислени селективни индекси (SI) в диапазона между 69,4 и 77,8 срещу HSV-1 и от 62,2 до 68,4 срещу KHV. Биоактивните метаболити от различни видове млечнокисели бактерии значително инхибират извънклетъчния HSV-1 и в по-малка степен – KHV вирионите. Блокирането на вирусната адсорбция към клетките гостоприемници беше значително, като се отчете намаляване на вирусния титър с $\Delta \lg \geq 5$ в Mix групата и за двата херпесни вируса. Останалите постметаболити също значително инхибираха вирусната адсорбция в различна степен с $\Delta \lg \geq 3$. Повечето метаболити проявиха и защитен ефект върху здрави MDBK и CCB клетки срещу последваща експериментална вирусна инфекция. Нашите резултати разкриват нови хоризонти за приложението на млечнокиселите бактерии и техните постбиотици продукти в превенцията и лечението на херпесните заболявания.

Ключови думи: антивирусна активност; Herpes simplex virus type 1; Koi herpes virus; вирусна репликация; вирусциден ефект; вирусна адсорбция; *Lactobacillus* пробиотици; постбиотици.

17. Gyurova, A., Milkova, V., Iliev, I., Lazarova-Zdravkova, N., Rashev, V., **Simeonova, L.**, Vilhelmova-Ilieva, N.. Anti-Coronavirus Activity of Chitosan-Stabilized Liposomal Nanocarriers Loaded with Natural Extracts from Bulgarian Flora. *Life*, 14, 9, MDPI, 2025, ISSN: 2075-1729, DOI: 10.3390/life14091180, Q1, (Scopus) [Линк](#)

Abstract: Disease's severity, mortality rates, and common failures to achieve clinical improvement during the unprecedented COVID-19 pandemic exposed the emergency need for new antiviral therapeutics with higher efficacy and fewer adverse effects. This study explores the potential to encapsulate multi-component plant extracts in liposomes as optimized delivery systems and to verify if they exert inhibitory effects against human seasonal betacoronavirus OC43 (HCoV-OC43) in vitro. The selection of *Sambucus nigra*, *Potentilla reptans*, *Allium sativum*, *Aesculus hippocastanum*, and *Glycyrrhiza glabra* L. plant extracts was based on their established pharmacological and antiviral properties. The physicochemical characterization of extract-loaded liposomes was conducted by DLS and electrokinetics. Encapsulated amounts of the extract were evaluated based on the total flavonoid content (TFC) and total polyphenol content (TPC) by colorimetric methods. The BALB 3T3 neutral red uptake (NRU) phototoxicity/cytotoxicity assay was used to estimate compounds' safety. Photo irritation factors (PIFs) of the liposomes containing extracts were <2 which assigned them as non-phototoxic substances. The antiviral capacities of liposomes containing medicinal plant extracts against HCoV-OC43 were measured by the cytopathic effect inhibition test in susceptible HCT-8 cells. The antiviral activity increased by several times compared to "naked" extracts' activity reported previously. A. hippocastanum extract showed 16 times higher inhibitory properties reaching a selectivity index (SI) of 58.96. Virucidal and virus-adsorption effects were investigated using the endpoint dilution method and $\Delta \lg$ s comparison with infected and untreated controls. The results confirmed that nanoparticles do not directly affect the viral surface or cell

membrane, but only serve as carriers of the active substances and the observed protection is due solely to the intracellular action of the extracts.

Keywords: natural extracts; chitosan; liposomes; encapsulation; drug release; coronavirus HCoV-OC43; antiviral activity; natural inhibitors of viral replication; cytotoxicity; phototoxicity

Резюме: Тежестта на заболяването, нивата на смъртност и честите неуспехи в постигането на клинично подобрене по време на безпрецедентната пандемия от COVID-19 разкриха спешната необходимост от нови антивирусни терапевтици с по-висока ефективност и по-малко нежелани ефекти. Това проучване изследва потенциала за капсулиране на многокомпонентни растителни екстракти в липозоми като оптимизирани системи за доставка и проверява дали те проявяват инхибиторни ефекти срещу човешкия сезонен бета-коронавирус OC43 (HCoV-OC43) *in vitro*. Изборът на растителни екстракти от *Sambucus nigra*, *Potentilla reptans*, *Allium sativum*, *Aesculus hippocastanum* и *Glycyrrhiza glabra* L. се основава на техните установени фармакологични и антивирусни свойства. Физикохимичната характеристика на липозомите, натоварени с екстракти, беше извършена чрез DLS и електрокинетика. Количеството на капсулирания екстракт беше оценено чрез общото съдържание на флавоноиди (TFC) и общото съдържание на полифеноли (TPC) чрез колориметрични методи. Фототоксичността/цитотоксичността на съединенията беше определена чрез теста за неутрално червено (NRU) върху BALB 3T3 клетки. Факторите на фотораздразнение (PIF) на липозомите, съдържащи екстракти, бяха <2, което ги класифицира като нефототоксични вещества. Антивирусният капацитет на липозомите с лекарствени растителни екстракти срещу HCoV-OC43 беше измерен чрез тест за инхибиране на цитопатичния ефект в податливи HCT-8 клетки. Антивирусната активност се увеличи няколко пъти в сравнение с активността на „голите“ екстракти, докладвана преди това. Екстрактът от *Aesculus hippocastanum* показва 16 пъти по-високи инхибиторни свойства, достигайки селективен индекс (SI) от 58,96. Вируцидните и вирус-адсорбционните ефекти бяха изследвани чрез метода на крайно разреждане и сравнението на Δlg със заразени и нелекувани контроли. Резултатите потвърдиха, че наночастиците не влияят директно върху вирусната повърхност или клетъчната мембрана, а служат единствено като носители на активните вещества, като наблюдаваната защита се дължи единствено на вътреклетъчното действие на екстрактите.

Ключови думи: натурални екстракти; хитозан; липозоми; капсулиране; освобождаване на лекарствени вещества; коронавирус HCoV-OC43; антивирусна активност; натурални инхибитори на вирусна репликация; цитотоксичност; фототоксичност.

18. Ivanova, N, Ermenlieva, N, **Simeonova, L**, Vilhelmova-Ilieva, N, Bratoeva, K, Stoyanov, G, Andonova, V. In Situ Gelling Behavior and Biopharmaceutical Characterization of Nano-Silver-Loaded Poloxamer Matrices Designed for Nasal Drug Delivery. Gels, 10, 6, MDPI, 2024, ISSN: 2310-2861, DOI: 10.3390/gels10060385, 385. Q1, (Scopus) [Линк](#)

Abstract: A combination of Poloxamer 407 (P407) and hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) hydrosols is proposed as an in situ thermo-gelling vehicle for the nasal drug delivery of chlorhexidine– silver nanoparticles conjugates (SN-CX). Optimization of the formulation was carried out by applying varying ratios of P407 and HPMC in the presence and absence of SN-CX so that gelation would occur in the temperature range of the nasal cavity (30–34 °C). Mechanisms for the observed gelation phenomena were suggested based on viscosimetry, texture analysis, and dynamic light scattering. Tests were carried out for sprayability, washout time, in vitro drug release, ex vivo permeation, and antimicrobial activity. When applied separately, HPMC was found to lower the P407 gelation temperature (T_g), whereas SN-CX increased it. However, in the presence of HPMC,

SN-CX interfered with the P407 micellar organization in a principally contrasting way while leading to an even further decrease in T_g. SN-CX-loaded nasal formulations composed of P407 16% and HPMC 0.1% demonstrated a desired gelation at 31.9 °C, good sprayability (52.95% coverage of the anterior nasal cavity), mucoadhesion for 70 min under simulated nasal clearance, expedient release and permeation, and preserved anti-infective activity against seasonal Influenza virus and beta-coronavirus, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and other pathogens. Our findings suggest that the current development could be considered a potential formulation of a protective nasal spray against respiratory infections.

Keywords: silver nanoparticles; chlorhexidine; Kolliphor P407; thermogelation; phase transition; sol–gel transition; protective nasal spray; respiratory infections; prophylaxis; virucidal activity

Резюме: Комбинация от Poloxamer 407 (P407) и хидроксипропилметилцелулоза (HPMC) хидрозоли е предложена като *in situ* термогелиращ носител за назална доставка на конюгати от хлорхексидин–сребърни наночастици (SN-CX). Оптимизацията на формулировката беше извършена чрез прилагане на различни съотношения на P407 и HPMC в присъствието и отсъствието на SN-CX, така че гелация да настъпва в температурния диапазон на носната кухина (30–34 °C). Механизмите на наблюдаваните гелационни явления бяха предложени въз основа на вискозиметрия, текстурен анализ и динамично разсейване на светлината. Бяха проведени тестове за разпръскваемост, време на отмиване, *in vitro* освобождаване на лекарството, *ex vivo* пермеация и антимикробна активност. При самостоятелно приложение HPMC понижаваше температурата на гелация (T_g) на P407, докато SN-CX я повишаваше. Въпреки това, в присъствието на HPMC, SN-CX взаимодействат с мицеларната организация на P407 по принципно противоположен начин, водейки до още по-изразено понижаване на T_g. Назалните формулировки, съдържащи SN-CX, съставени от 16% P407 и 0,1% HPMC, демонстрираха желана гелация при 31,9 °C, добра разпръскваемост (52,95% покритие на предната носна кухина), мукоадхезия за 70 минути при симулирано назално почистване, бързо освобождаване и пермеация, както и запазена антиинфекциозна активност срещу сезонен грипен вирус и бета-коронавирус, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и други патогени. Нашите резултати предполагат, че настоящата разработка може да бъде разглеждана като потенциална формулировка на защитен назален спрей срещу респираторни инфекции.

Ключови думи: сребърни наночастици; хлорхексидин; Kolliphor P407; термогелация; фазов преход; сол-гел преход; защитен назален спрей; респираторни инфекции; профилактика; вирусцидна активност.

III. Резюмета на публикации в нереферирани списания или сборници с научно рецензиране

19. Grozdanov, P., Simeonova, L., Nikolova, I. Galabov, A. S. Detection of oral human papilloma viruses (HPV). In: Microbiology for a Better Health and Industry (70th Years Jubilee of the Stephan Angeloff Institute of Microbiology, BAS) (H. Najdenski, Ed.), Sofia, 2017, ISSN: 978-954-92882-2-3, 194-198 Национално неакадемично издателство

Abstract

Squamous cell carcinomas (SCCs) are the most common malignancy in the head and neck region. Common risk factors in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) are smoking and alcohol abuse, however, in an increasing proportion of cases, no significant smoking or drinking history has been reported.

Approximately 35 years ago, a role of human papillomavirus (HPV) in cervical cancer was postulated. Today, it is well established how this very heterogeneous virus family represents an important human carcinogen, causing not only the vast majority of cervical and ano-genital tumors, but also a variable number of cancers in other districts of the human body including the head and neck. The fifth leading cause of cancer mortality rate proved oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC) - throat cancer associated with positive results for the presence of HPV. HPV oral and oropharyngeal cancers are harder to discover than tobacco related cancers because the symptoms are not always obvious to the individual who is developing the disease, or to professionals that are looking for it. They can be very subtle and painless. We present cases of three patients (47-year-old male, 48-year-old male and 55-year-old male) diagnosed with benign warts in the oral cavity were studied for the presence of HPV DNA. We used PCR kit for the qualitative detection of human papillomaviruses (REF V-10/14-50F) provided for us by "Sacace Biotechnologies". The targets of the PCR reaction were E6, E2, E1, L1 genes. Positive and negative controls were used to avoid false results. Our PCR analysis showed the presence of HPV-DNA (HPV 6) within the samples.

Key Words: Human papillomavirus, PCR, oropharyngeal squamous cell carcinoma

Плоскоклетъчните карциноми (SCCs) са най-честото злокачествено заболяване в областта на главата и шията на човека. Най-общите рискови фактори за развитие на рак в областта на главата (HNSCC) са тютюнопушенето и злоупотребата с алкохол. През последните години обаче растат случаите на този вид заболяване при хора, които не са изложени на тези рискови фактори.

Преди 35 години се доказва ролята на човешкия папиломен вирус (HPV) при рака на маточната шийка. Днес е добре известно, че вируси от това хетерогенно семейство представляват важен канцероген фактор за човека, причинявайки не само рак на маточната шийка, а и ано-генитални тумори, като вече има данни и за различен брой злокачествени заболявания в други области на човешкото тяло, включително главата и шията. Петата водеща причина за смъртност от ракови заболявания се оказва орофарингеалния карцином (OPSCC) - рак на гърлото, асоцииран с положителни резултати за наличие на HPV. Раковите заболявания на устата и гърлото, свързани с вирусна етиология, са по-трудни за откриване от тези свързани с тютюнопушенето, тъй като симптомите не винаги са очевидни за пациента и лекуващия го лекар. В настоящата работа представяме трима пациенти, с диагноза доброкачествени брадавици в устната кухина, изследвани за наличие на вирусна ДНК. За целта използвахме полимеразно верижна реакция PCR кит за качествено откриване на човешките папиломни вируси (REF V-10/14-50F, "Sacace Biotechnologies"). Мишената на полимеразно верижната реакция бяха вирусните гени E6, E2, E1 и L1. За валидиране на резултатите бяха използвани положителни и отрицателни контроли. Резултатите ни показаха наличие на вирусна ДНК (HPV 6) във всички изследвани проби.

20. Simeonova L., Gegova G., Doumanova L., Kaleva A., Leseva M., Dimitrova P. Host Epigenetic Mechanisms In Experimental Anti-Influenza Therapy. Modern Microbiology: A Challenge for Improving the Quality Of Life. 75th Anniversary of the Stephan Angeloff Institute of Microbiology, Farrago, 2022, ISBN: 978-619-206-207-1, 212-219 Национално неакадемично издателство [Линк](#)

Abstract

Biological variation in gene expression exists between individuals in the human population not only due to genetic differences but also because of the broad influence and pressures of environmental factors, which taken together may affect the host's susceptibility to viral infections. Highly pathogenic strains of influenza virus (IAV subtype H1N1, or swine influenza and IAV subtype H5N1, or avian influenza) and coronavirus (CoV) (severe acute respiratory syndrome (SARS)-CoV, Middle East respiratory syndrome (MERS)-CoV, and SARS-

CoV-2) can cause severe disease in humans. Host-pathogen interactions can determine the clinical outcome of an infection. In critically ill patients, viral load persists together with an abnormal immune response and severe pulmonary illness. Viruses can exploit host cellular mechanisms not only to reproduce themselves but also to alter host gene expression creating a virus-friendly environment. Herein we provide an update on recent discoveries about epigenetic-sensitive mechanisms affected during viral infections.

Keywords: epigenetic mechanisms, influenza

Съществуват биологични вариации в генната експресия между индивидите в човешката популация не само поради генетични различия, но и поради широкото влияние и натиск на факторите на околната среда, които взети заедно могат да повлияят податливостта на гостоприемника към вирусни инфекции. Високопатогенни щамове на грипен вирус (IAV подтип H1N1 или свински грип и IAV подтип H5N1 или птичи грип) и коронавирус (CoV) (тежък остър респираторен синдром (SARS)-CoV, респираторен синдром на Близкия изток (MERS)-CoV и SARS-CoV-2) могат да причинят тежко заболяване при хората. Взаимодействията гостоприемник-патоген могат да определят клиничния резултат от инфекцията. При критично болни пациенти вирусният товар персистира заедно с аномален имунен отговор и тежко белодробно заболяване. Вирусите могат да използват клетъчните механизми на гостоприемника не само за да се възпроизвеждат, но и за да променят генната експресия на гостоприемника, създавайки благоприятна за вируса среда. Тук предоставяме актуализация на последните открития за епигенетично-чувствителни механизми, засегнати при вирусни инфекции.

Ключови думи: епигенетични механизми, грип