

## Резюмета на научните публикации на български и английски език

### Група В

Показател №4: Хабилизационен труд – научни публикации и издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus - SJR)

1. Batovska DI, Todorova IT. Trends in utilization of the pharmacological potential of chalcones. *Curr Clin Pharmacol*. 2010; 5(1): 1-29. DOI: 10.2174/157488410790410579.

**Abstract:** Chalcones (1,3-diaryl-2-propen-1-ones) are open chain flavonoids that are widely biosynthesized in plants. They are important for the pigmentation of flowers and, hence, act as attractants to the pollinators. As flavonoids, chalcones also play an important role in defense against pathogens and insects. Longstanding scientific research has shown that chalcones also display other interesting biological properties such as antioxidant, cytotoxic, anticancer, antimicrobial, antiprotozoal, antiulcer, antihistaminic, and anti-inflammatory activities. Some lead compounds with various pharmacological properties have been developed based on the chalcone skeleton. Clinical trials have shown that these compounds reached reasonable plasma concentrations and did not cause toxicity. For these reasons, chalcones became an object of continued interest in both academia and industry. Nowadays, several chalcones are used for treatment of viral disorders, cardiovascular diseases, parasitic infections, pain, gastritis, and stomach cancer, as well as like food additives and cosmetic formulation ingredients. However, much of the pharmacological potential of chalcones is still not utilized. The purpose of this review is to describe the recent efforts of scientists in pharmacological screening of natural and synthetic chalcones, studying the mechanisms of chalcone action and relevant structure-activity relationships. Put together, these activities aimed at synthesis of pharmacologically active chalcones and their analogs.

**Резюме:** Халконите (1,3-диарил-2-пропен-1-они) са флавоноиди с отворен пръстен С, които се биосинтезират в много растения. Те са важни за пигментацията на цветовете, привличат опрашителите и също играят важна роля в защитата на растенията срещу патогени и насекоми. Дългогодишни научни изследвания са показали, че халконите проявяват антиоксидантна, цитотоксична, противоракова, антимикробна, антипротозойна, противоязвена, антихистаминова и противовъзпалителна активност и въз основа на техния скелет са разработени някои лидерни структури. Според клиничните изпитвания тези съединения достигат допустими плазмени концентрации и не предизвикват токсичност. Поради тези причини халконите са обект на постоянен интерес както в

академичните среди, така и в индустрията. В наши дни няколко халкона се използват за лечение на вирусни и паразитни инфекции, сърдечно-съдови заболявания, гастрит, рак на стомаха и за облекчаване на болка, както и като хранителни добавки и съставки в козметични формули. Въпреки това голяма част от фармакологичния потенциал на халконите все още не е усвоен. Целта на тази обзорна статия е да опише последните постижения във фармакологичния скрининг на природните и синтетични халкони, изучавайки механизмите им на действие и съответните връзки структура-активност и по този начин да даде насоки за синтез на фармакологично активни халкони и техни аналози.

2. Todorova I, Batovska D, Stamboliyska B, Parushev S. Evaluation of radical scavenging activity of a series of synthetic hydroxychalcones towards DPPH radical. *J Serb Chem Soc.* 2011; 76(4): 491-497. DOI: 10.2298/JSC100517043T.

**Abstract:** Sixteen hydroxychalcones were synthesized in sufficient purity by the Claisen-Schmidt condensation between appropriate acetophenones and aromatic aldehydes. All the compounds were evaluated for their ability to scavenge the stable free 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical. Important structure-activity relationships were observed that strongly contribute to the knowledge for the design of DPPH radical scavenging chalcones. Relevant theoretical parameters were computed to understand and explain the obtained experimental results.

**Резюме:** Шестнадесет хидроксихалкона бяха синтезирани с достатъчна чистота чрез кондензация по Claisen-Schmidt между подходящо заместени ацетофенони и ароматни алдехиди. Всички съединения бяха оценени за тяхната способност да улавят стабилния свободен 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил (DPPH) радикал. Бяха наблюдавани важни връзки структура-активност, които значително допринасят за дизайна на халкони с DPPH радикал-уловителна активност. Получените експериментални резултати бяха обяснени чрез изчисление на съответните теоретични параметри.

3. Mitrev Y, Mehandzhiyski A, Batovska D, Liese A, Galunsky B. Original enzyme-catalyzed synthesis of chalcones: Utilization of hydrolase promiscuity. *J Serb Chem Soc.* 2016; 81(11): 1231-1237. DOI: 10.2298/JSC160422069M.

**Abstract:** E-chalcone was obtained with very high stereoselectivity for the first time by an enzyme-catalyzed Claisen-Schmidt condensation between benzaldehyde and

acetophenone. From a set of lipases, only that from hog pancreas demonstrated promiscuity, catalyzing the reaction in the presence of imidazole as a promoter. Another enzyme, acylase from *Aspergillus melleus* (3.5.1.14) also proved to be active in the synthesis of E-chalcone under the same reaction conditions. This acylase along with the recombinant D-aminoacylase (3.5.1.81) catalyzed also the reaction between acetophenone and p-nitrobenzaldehyde. Such "green" approach to synthesis of chalcones is of great interest, because of their important applications as formula ingredients in pharmaceutical, food and cosmetic industry.

**Резюме:** Е-халконът бе получен с много висока стереоселективност за първи път чрез ензимно катализирана кондензация по Claisen-Schmidt между бензалдехид и ацетофенон. От група липази, само тази от свински панкреас демонстрира промискуитет, катализирайки реакцията в присъствието на имидазол като промотор. Друг ензим, ацилаза от *Aspergillus melleus* (3.5.1.14), също се оказва активен в синтеза на Е-халкон при същите реакционни условия. Тази ацилаза заедно с рекомбинантната D-аминоацилаза (3.5.1.81) катализира и реакцията между ацетофенон и р-нитробензалдехид. Такъв „зелен“ подход към синтеза на халконите е от голям интерес, поради важните им приложения като съставки на формули във фармацевтичната, хранително-вкусовата и козметичната промишленост.

4. Sinha S, Batovska D, Medhi B, Radotra B, Bhalla A, Markova N, Sehgal R. In vitro anti-malarial efficacy of chalcones: Cytotoxicity profile, mechanism of action and their effect on erythrocytes. *Malar J.* 2019; 18: 1-11. DOI: 10.1186/s12936-019-3060-z.

**Abstract:** Background: Malaria extensively leads to mortality and morbidity in endemic regions, and the emergence of drug resistant parasites is alarming. Plant derived synthetic pharmaceutical compounds are found to be foremost research to obtain diverse range of potent leads. Amongst them, the chalcone scaffold is a functional template for drug discovery. The present study involves synthesis of ten chalcones with various substitution pattern in rings A and B and assessment of their anti-malarial efficacy against chloroquine sensitive and chloroquine resistant strains as well as of their cytotoxicity and effect on haemozoin production. Methods: The chalcones were synthesized by Claisen-Schmidt condensation between equimolar quantities of substituted acetophenones and aryl benzaldehydes (or indole-3-carboxaldehyde) and were screened for anti-malarial activity by WHO Mark III schizont maturation inhibition assay. The cytotoxicity profile of a HeLa cell line was evaluated through MTT viability assay and the selectivity index (SI) was calculated. Haemozoin inhibition assay was performed to illustrate mode of action on a *Plasmodium falciparum* strain. Results: The IC<sub>50</sub> values of all compounds were in the range 0.10–0.40 µg/mL for MRC-2 (a chloroquine sensitive strain) and 0.14–0.55 µg/mL for RKL-9 (a chloroquine resistant strain) of *P. falciparum*. All the chalcones

showed low cellular toxicity with minimal haemolysis. The statistically significant reduction ( $p < 0.05$ ) in the haemozoin production suggests a similar mechanism than that of chloroquine. Conclusions: Out of ten chalcones, number 7 was found to be a lead compound with the highest potency ( $IC_{50} = 0.11 \mu\text{g/mL}$ ), as compared to licochalcone ( $IC_{50} = 1.43 \mu\text{g/mL}$ ) and with high selectivity index of 85.05.

**Резюме:** Предистория: Маларията води до висока степен на заболяемост и смъртност в ендемичните региони, а появата на резистентни към лекарства паразити е особено тревожна. Установено е, че сред най-мощните източници на лекарства за малария са синтетичните фармацевтични аналози на съединения от растителен произход, като особено перспективен е халконовият скелет. Настоящото изследване включва синтез на десет халкона с различен модел на заместване в пръстените А и В и оценка на тяхната антимальна ефикасност срещу чувствителни и резистентни към хлорохин щамове, както и определяне на тяхната цитотоксичност и ефект върху производството на хемозоин. Методи: Халконите бяха синтезирани чрез кондензация по Claisen-Schmidt между еквимоларни количества от подходящо заместени ацетофенони и арилалдехиди (или индол-3-карбоксалдехид) и бяха изследвани за антимальна активност чрез WHO Mark III метод за инхибиране узряването на шизонти. Цитотоксичният профил на халконите беше оценен в клетъчна линия HeLa чрез МТТ тест и беше изчислен индексът им на селективност (SI). За да се илюстрира начинът на действие на халконите върху щамове *Plasmodium falciparum* бе извършен анализ на инхибиране на хемозоин. Резултати:  $IC_{50}$  стойностите на всички съединения бяха в диапазона 0.10–0.40  $\mu\text{g/mL}$  за MRC-2 (щам, чувствителен към хлорохин) и 0.14–0.55  $\mu\text{g/mL}$  за RKL-9 (щам, устойчив на хлорохин) на *P. falciparum*. Всички халкони показаха ниска клетъчна токсичност с минимална хемолиза. Статистически значимото намаление ( $p < 0.05$ ) в производството на хемозоин предполага механизъм, подобен на този на хлорохина. Заключение: От десетте халкона, за номер 7 бе установено, че е лидерно съединение с най-висока ефективност ( $IC_{50} = 0.11 \mu\text{g/mL}$ ), в сравнение с ликохалкона ( $IC_{50} = 1.43 \mu\text{g/mL}$ ) и с висок индекс на селективност от 85.05.

5. Sinha S, Radotra B, Medhi B, Batovska D, Markova N, Sehgal R. Ultrastructural alterations in *Plasmodium falciparum* induced by chalcone derivatives. BMC Res Notes. 2020; 13(1): 1-6. DOI: 10.1186/s13104-020-05132-z.

**Abstract:** Objective: Chalcones (1, 3-diaryl-2-propen-1-ones) and their derivatives are widely explored from the past decade for its antimalarial activity. To elucidate their mechanism of action on the malaria parasite, the ultrastructural changes with the action of these derivatives in different organelles of the parasite were studied in vitro. Infected RBCs [CQ sensitive (MRC-2) and CQ resistant (RKL-9) *Plasmodium* strain] were treated with three chalcone derivatives **1**, **2** and **3** and standard drugs,

i.e., CQ and artemisinin at twice their respective  $IC_{50}$  values for 24 h and then harvested, washed, fixed, embedded and stained to visualize ultra-structure changes before and after intervention of treatment under in vitro condition through transmission electron microscope. Results: The ultrastructural changes demonstrate the significant disturbance of all parasite membranes, including those of the nucleus, mitochondria and food vacuole, in association with a marked reduction of ribosomes in the trophozoites and cessation of developing schizonts which suggest multiple mechanisms of action by which chalcone derivatives act on the malaria parasite. The present study opens perspectives for further exploration of these derivatives in vivo malaria model to discover more about its effect and mechanism of action.

**Резюме:** Цел: В последното десетилетие, халконите (1,3-диарил-2-пропен-1-они) и техните производни са широко изследвани за антималяриска активност. За да се изясни механизмът им на действие върху маларийния паразит и ултраструктурните промени, които причиняват в различни органели на паразита, бяха проведени in vitro изследвания. Инфектирани червени кръвни клетки [CQ чувствителен (MRC-2) и CQ резистентен (RKL-9) Plasmodium щам] бяха третирани с три халкона **1**, **2** и **3** и стандартни лекарства, т.е. CQ и артемизинин при два пъти по-високи от съответните им  $IC_{50}$  стойности за 24 часа и след това събрани, измити, фиксирани, вградени и оцветени, за да се визуализират ултраструктурни промени преди и след интервенция на третиране при in vitro условия чрез трансмисионен електронен микроскоп. Резултати: Ултраструктурните промени демонстрират значително нарушение на всички паразитни мембрани, включително тези на ядрото, митохондриите и хранителната вакуола, във връзка с подчертано намаляване на рибозомите в трофозоитите и спиране на развиващите се шизонти, което предполага множество механизми на действие, чрез които халконите действат върху маларийния паразит. Настоящото проучване отваря перспективи за по-нататъшно изследване на тези съединения в in vivo модел на малария, за да се открие повече за техния ефект и механизъм на действие.

6. Sinha S, Prakash A, Medhi B, Sehgal A, Batovska D, Sehgal R. Pharmacokinetic evaluation of chalcone derivatives with antimalarial activity in New Zealand white rabbits. BMC Res Notes. 2021; 14: 1-7. DOI: 10.1186/s13104-021-05684-8.

**Abstract:** Objective: Malaria is a major global health concern with the urgent need for new treatment alternatives due to the alarming increase of drug-resistant Plasmodium strains. Chalcones and its derivatives are important pharmacophores showing antimalarial activity. Determination of the pharmacokinetic variables at the preliminary step of drug development for any drug candidates is an essential component of in vivo antimalarial efficacy tests. Substandard pharmacokinetic variables are often responsible for insufficient therapeutic effect. Therefore, three chalcone derivatives, **1**, **2**, and **3**, having antimalarial potency were studied further

for potential therapeutic efficacy. Results: In vivo pharmacokinetic studies of these three derivatives were performed on New Zealand White rabbits. The three derivatives were administered intra-peritoneally or orally at effective dose concentration and blood samples at different time points were collected. The determination of drug concentration was done through reverse phase-high performance liquid chromatography. The peak plasma concentration of derivative **1**, **2**, and **3** were  $1.96 \pm 0.46 \mu\text{g/mL}$  (intra-peritoneal route),  $69.89 \pm 5.49 \mu\text{g/mL}$  (oral route), and  $3.74 \pm 1.64 \mu\text{g/mL}$  (oral route). The results indicate a very low bioavailability of these derivatives. The present study gives a benchmark to advance the investigation of more derivatives in order to revamp the pharmacokinetic variables while maintaining both potency and metabolic constancy.

**Резюме:** Цел: Маларията е глобален здравен проблем със спешна нужда от нови алтернативи за лечение поради тревожното нарастване на резистентните към лекарства щамове Plasmodium. Халконите и техните производни са важни фармакофори, показващи антималярийна активност. Определянето на фармакокинетичните променливи на предварителния етап от разработването на лекарства за всяко лекарство-кандидат е съществен компонент на in vivo тестовете за антималярийна ефикасност. Нестандартните фармакокинетични променливи често са отговорни за недостатъчния терапевтичен ефект. По тази причина, три халкона, **1**, **2** и **3**, притежаващи антималярийна активност, бяха допълнително проучени за потенциална терапевтична ефикасност. Резултати: Извършени бяха in vivo фармакокинетични изследвания на халконите върху новозеландски бели зайци. Трите съединения бяха приложени интраперитонеално или орално в концентрация на ефективна доза и бяха събрани кръвни проби в различни моменти от време. Концентрацията на лекарството бе определена чрез високоефективна течна хроматография с обратна фаза. Пиковата плазмена концентрация на **1**, **2** и **3** е съответно  $1.96 \pm 0.46 \mu\text{g/mL}$  (интраперитонеален път),  $69.89 \pm 5.49 \mu\text{g/mL}$  (перорален път) и  $3.74 \pm 1.64 \mu\text{g/mL}$  (перорален път). Резултатите показват много ниска бионаличност на тези производни. Настоящото проучване дава еталон за напредък в изследването на повече производни, за да се преработят фармакокинетичните променливи, като същевременно се поддържа както ефикасността, така и метаболитното постоянство.

#### Група Г

Показател № 7: Научна публикация в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus - SJR), извън хабилитационния труд

7. Vasil'ev R, Kancheva V, Fedorova G, Batovska D, Trofimov A. Antioxidant activity of chalcones: The chemiluminescence

determination of the reactivity and the quantum-chemical calculation of the energies and structures of reagents and intermediates. *Kinet Catal.* 2010; 51(4): 507-515. DOI: 10.1134/S0023158410040087.

**Abstract:** Six antioxidants from the class of chalcones (ArOH), compounds from which flavonoids are obtained in nature, were studied. The antiradical activity of chalcones and a number of related compounds was determined by a chemiluminescence method using the scavenging of peroxide radicals  $\text{ROO}\bullet + \text{ArOH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{OAr}\bullet$  (with the rate constant  $k_7$ ) in a model reaction of diphenylmethane (RH) oxidation. The structures and energies of the reagents and intermediates were determined by semiempirical quantum chemical (PM3, PM6) calculations. 3,4-Dihydroxychalcone and caffeic acid, which have a catechol structure, that is, two neighboring OH groups in phenyl ring B, exhibited high antioxidant activity ( $k_7 \approx 107 \text{ l mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ); this is consistent with the lowest bond strengths  $D(\text{ArO-H})$  of 79.2 and 76.6 kcal/mol, respectively. The abstraction of a hydrogen atom by the  $\text{ROO}\bullet$  radical is the main reaction path of these compounds; however, the low stoichiometric coefficients of inhibition ( $f = 0.3-0.7$ ) suggest a contribution of secondary and/or side reactions of ArOH and  $\text{OAr}\bullet$ . In the other chalcones, the ArO-H bond is stronger ( $D(\text{ArO-H}) = 83-88 \text{ kcal/mol}$ ) and the antioxidant activity is lower ( $k_7 = 104-105 \text{ l mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ).

**Резюме:** Изследвани бяха шест антиоксиданта от класа на халконите (ArOH), съединения, от които се получават флавоноидите в природата. Антирадикалната активност на халконите и редица сродни съединения бе определена чрез хемилуминесцентен метод, като бе използвано улавянето на пероксидни радикали  $\text{ROO}\bullet + \text{ArOH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{OAr}\bullet$  (със скоростна константа  $k_7$ ) в моделна реакция на окисление на дифенилметан (RH). Структурите и енергиите на реагентите и междинните продукти бяха определени чрез полуемпирични квантовохимични (PM3, PM6) изчисления. 3,4-Дихидроксихалконът и кафеената киселина, които имат катехолова структура, тоест две съседни OH групи във фениловия пръстен B, показаха висока антиоксидантна активност ( $k_7 \approx 107 \text{ l mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ); това е в съответствие с най-ниските якости на връзката  $D(\text{ArO-H})$  съответно от 79,2 и 76,6 kcal/mol. Отвличането на водороден атом от  $\text{ROO}\bullet$  радикала е основният реакционен път на тези съединения; но ниските стехиометрични коефициенти на инхибиране ( $f = 0,3-0,7$ ) предполагат принос на вторични и/или странични реакции на ArOH и  $\text{OAr}\bullet$ . При останалите халкони връзката ArO-H е по-силна ( $D(\text{ArO-H}) = 83-88 \text{ kcal/mol}$ ) и антиоксидантната активност е по-ниска ( $k_7 = 104-105 \text{ l mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ).

8. Ivanova A, Batovska D, Todorova I, Stamboliyska B, Serly J, Molnar J. Comparative study on the MDR reversal effects of selected chalcones. *Int J Med Chem.* 2011; 2011. DOI: 10.1155/2011/530780.

**Abstract:** Based on the structure of three previously established lead compounds, fifteen selected chalcones were synthesized and evaluated for their multidrug resistance (MDR) reversal activity on mouse lymphoma cells. The most active chalcones were stronger revertants than the positive control, verapamil. In the model of combination chemotherapy, the interactions between the anticancer drug doxorubicin and two of the most effective compounds were measured *in vitro*, on human MDR1 gene transfected mouse lymphoma cells, showing that the type of interaction for one of these compounds was indifferent while that for the other one was additive. Furthermore, two chalcones inhibited 50% of cell proliferation in concentration of around 0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and were from 2- to 100-fold more active than the most chalcones. The structure-activity relationships were obtained and discussed in view of their usefulness for the design of chalcone-like P-gp modulators and drugs able to treat resistant cancers.

**Резюме:** Въз основа структурата на три предварително установени лидерни съединения, бяха синтезирани 15 халкона и оценени за тяхната обратима активност върху мултимедикаментозна резистентност (MDR) в миши лимфони клетки. Най-активните халкони бяха по-силни ревертанти от положителната контрола, верапамил. В модела на комбинирана химиотерапия, взаимодействията между противораковото лекарство доксорубицин и две от най-ефективните съединения бяха измерени *in vitro* в клетки от миши лимфом, трансфектирани с човешки MDR1 ген, което показва, че типът на взаимодействие за едно от тези съединения е индиферентен, а за другото е адитивен. Освен това двата халкона инхибират 50% от клетъчната пролиферация в концентрация от около 0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  и са от 2 до 100 пъти по-активни от повечето халкони. Връзките структура-активност са обсъдени с оглед на тяхната полезност за дизайна на халконоподобни P-gp модулатори и лекарства, способни да лекуват резистентни ракови заболявания.

9. Mehandzhiyski A, Batovska D, Dimitrov D, Evstatieva L, Danova K. Nitric oxide-scavenging activity of *in vitro* cultured Balkan medicinal and aromatic plants. BJAS. 2013; 19(2): 31-34.

**Abstract:** Methanolic extracts from the aerial and root parts of *in vitro* cultured *Artemisia alba* and the aeriols of *in vitro* cultured *Clinopodium vulgare*, *Hypericum tetrapterum*, *H. richeri* and the endemic *H. rumeliacum* were evaluated for their nitric oxide scavenging capacities. Extracts of *H. rumeliacum*, *H. richeri* and *H. tetrapterum* exhibited remarkably higher activity (0.18, 0.17 and 0.97  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ , respectively) compared to *C. vulgare* and *A. alba* ( $\text{SC}_{50}$  = 3.45, 2.93 and 2.62  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ , respectively). Vitamin C (a reference compound) exhibited activity of 0.26  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . The presented results are indicative of the high therapeutic potential of the extracts



derived from the in vitro cultured plants and are a good basis for furthermore detailed research.

**Резюме:** Метанолови екстракти от надземни и коренови части на in vitro култивирана *Artemisia alba* и надземни части на in vitro култивирани *Clinopodium vulgare*, *Hypericum tetrapterum*, *H. richeri* и ендемичният *H. rumeliacum* бяха оценени за техния капацитет за улавяне на азотен оксид радикал. Екстрактите от *H. rumeliacum*, *H. richeri* и *H. tetrapterum* показаха забележително по-висока активност (съответно 0.18, 0.17 и 0.97 mg.ml<sup>-1</sup>) в сравнение с *C. vulgare* и *A. alba* (SC<sub>50</sub> = 3.45, 2.93 и 2.62 mg.ml<sup>-1</sup>, съответно). Витамин С (референтно съединение) показва активност от 0.26 mg.ml<sup>-1</sup>. Представените резултати са показателни за високия терапевтичен потенциал на екстрактите, получени от in vitro култивирани растения и са добра основа за по-задълбочени изследвания.

10. Markova N, Batovska D, Kozuharova E, Enchev V. Anti-conjunctivitis effect of fresh juice of *xGraptoveria* (Crassulaceae): A phytochemical and ethnobotanical study. *J Intercult Ethnopharmacol.* 2015; 4(1): 24. DOI: 10.5455/jice.20141104014605.

**Abstract:** Aim: The parent of *xGraptoveria*, *Graptopetalum paraguayense*, is used in Chinese folk medicine for alleviating hepatic disorders, detumescence and detoxication, lowering of blood pressure, inhibition of cancer cells, exerting diuretic effects, relieving pain and infections. No data are available regarding its anti-conjunctivitis effect. The aim of this preliminary study is to test the anti-conjunctivitis properties of *xGraptoveria* (Crassulaceae) and to identify its bioactive constituents. Materials and Methods: Fresh watery juice of leaves of *xGraptoveria* was extracted with n-butanol and the extract was analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The ethnobotanical appraisal of the anti-conjunctivitis properties of *xGraptoveria* was based on 11 interviews about the symptoms against which this plant demonstrated positive effect. Results: Fresh juice of *xGraptoveria* leaves applied directly to the irritated eye 2 times per day cured conjunctivitis in all reported cases. The main groups of organic compounds identified by GC/MS analysis in the fresh extracted leaf juice of *xGraptoveria* were: Alkylamines, hydroxycarboxylic acids, aliphatic and aromatic carboxylic acids, amino acids, alcohols, aromatic and aliphatic hydrocarbons. Conclusion: In this preliminary study, it is suggested that *xGraptoveria* exerts anti-conjunctivitis activity, through synergistic effect of different chemical compounds, most probably alkylamines and mainly hydroxycarboxylic, aliphatic, and aromatic carboxylic acids.

**Резюме:** Цел: Родителят на *xGraptoveria*, *Graptopetalum paraguayense*, се използва в китайската народна медицина за облекчаване на чернодробни нарушения, детумесценция и детоксикация, понижаване на кръвното налягане,

инхибиране на раковите клетки, упражняване на диуретичен ефект, облекчаване на болка и инфекции. Няма данни за антиконюнктивитния му ефект. Целта на това предварително проучване е да се тестват свойствата срещу конюнктивит на *xGraptoveria* (Crassulaceae) и да се идентифицират неговите биоактивни съставки. Материали и методи: Пресен воднист сок от листа на *xGraptoveria* бе екстрахиран с *n*-бутанол и екстрактът беше анализиран с помощта на газова хроматография-маспектрометрия (GC/MS). Етноботаническата оценка на свойствата на *xGraptoveria* срещу конюнктивит се основава на 11 интервюта за симптомите, срещу които това растение показва положителен ефект. Резултати: Пресен сок от листа на *xGraptoveria*, приложен директно върху раздразненото око 2 пъти на ден, лекува конюнктивит във всички докладвани случаи. Основните групи органични съединения, идентифицирани чрез GC/MS анализ в пряно извлечения сок от листа на *xGraptoveria*, са: алкиламини, хидроксикарбоксилни киселини, алифатни и ароматни карбоксилни киселини, аминокиселини, алкохоли, ароматни и алифатни въглеводороди. Заключение: В това предварително проучване се предполага, че *xGraptoveria* проявява активност срещу конюнктивит чрез синергичен ефект на различни химични съединения, най-вероятно алкиламини и главно хидроксикарбоксилни, алифатни и ароматни карбоксилни киселини.

11. Miliovsky M, Svinjarov I, Prokopova E, **Batovska D**, Stoyanov S, Bogdanov M. Synthesis and antioxidant activity of polyhydroxylated trans-restricted 2-arylcinnamic acids. *Molecules*. 2015; 20(2): 2555-2575. DOI: 10.3390/molecules20022555.

**Abstract:** A series of sixteen polyhydroxylated trans-restricted 2-arylcinnamic acid analogues **3a–p** was synthesized through a one-pot reaction between homophthalic anhydrides and various aromatic aldehydes, followed by treatment with  $\text{BBr}_3$ . The structure of the newly synthesized compounds was confirmed by spectroscopic methods and the configuration around the double bond was unequivocally estimated by means of gated decoupling  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra. It was shown that the trans-cinnamic acid fragment incorporated into the target compounds' structure ensures the cis-configuration of the stilbene backbone and prevents further isomerization along the carbon-carbon double bond. The antioxidant activity of compounds **3a–p** was measured against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH $\cdot$ ), hydroxyl (OH $\cdot$ ) and superoxide (O $2^{\cdot-}$ ) radicals. The results obtained showed that the tested compounds possess higher activities than natural antioxidants such as protocatechuic acid, caffeic acid and gallic acid. Moreover, it was shown that a combination of two different and independently acting fragments of well-known pharmacological profiles into one covalently bonded hybrid molecule evoke a synergistic effect resulting in higher than expected activity. To rationalize the apparent antioxidant activity and to establish the mechanism of action, a SAR analysis and DFT quantum chemical computations were also performed.

**Резюме:** Серия от шестнадесет полихидроксилирани аналози на транс-запречена 2-арилканелена киселина **3a-p** бе синтезирана чрез реакция в един съд между хомофталови анхидриди и различни ароматни алдехиди, последвано от третиране с  $\text{BBr}_3$ . Структурата на новосинтезираните съединения беше потвърдена чрез спектроскопски методи и конфигурацията около двойната връзка беше недвусмислено оценена чрез  $^{13}\text{C}$ -NMR спектри. Беше показано, че фрагментът на транс-канелената киселина, включен в структурата на целевите съединения, осигурява цис-конфигурацията на гръбнака на стилбена и предотвратява по-нататъшна изомеризация по двойната връзка въглерод-въглерод. Антиоксидантната активност на съединения **3a-p** бе измерена спрямо 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил ( $\text{DPPH}^\bullet$ ), хидроксилни ( $\text{OH}^\bullet$ ) и супероксидни ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) радикали. Получените резултати показаха, че тестваните съединения притежават по-висока активност от природни антиоксиданти като протокатехуена, кафеена и галова киселини. Освен това беше показано, че комбинация от два различни и независимо действащи фрагмента от добре известни фармакологични профили в една ковалентно свързана хибридна молекула предизвиква синергичен ефект, водещ до по-висока от очакваната активност. За да се рационализира очевидната антиоксидантна активност и да се установи механизмът на действие, също бяха извършени SAR анализ и DFT квантово-химични изчисления.

12. Stamboliyska B, Jashari A, Yancheva D, Mikhova B, Batovska D, Popovski E, Mladenovska K. Structure and radical scavenging activity of isoxazolo- and thiazolohydrazinylidene-chromaffin-2,4-diones. *Bulg Chem Commun.* 2017; 49D: 99-105.

**Abstract:** Quantum chemical calculations based on the density functional theory and NMR spectroscopy have been employed to perform structural analysis of four thiazolo- and three isoxazolohydrazinylidene-chroman-2,4-diones and to predict their relevant structural isomers. The scavenging capacities of the studied molecules towards nitric oxide ( $\text{NO}^\bullet$ ), superoxide anion radical ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) and  $\text{DPPH}^\bullet$  radicals were estimated. The compounds possessing a thiazolidine ring were 10-fold more active in the test with nitric oxide ( $\text{NO}^\bullet$ ) than the rest of coumarins with isoxazolidine ring. A radical scavenging mechanism in aqueous medium was proposed to explain this activity.

**Резюме:** С помощта на квантово-химичните изчисления, базирани на теорията на функционалната плътност и ЯМР спектроскопия структурно бяха охарактеризирани четири тиазоло- и три изоксазолохидразинилиден-хроман-2,4-диона и бяха предсказани съответните им структурни изомери. Бяха оценени уловителните капацитети на изследваните молекули спрямо азотен оксид ( $\text{NO}^\bullet$ ), супероксид анион радикал ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) и  $\text{DPPH}^\bullet$  радикал. Съединенията с тиазолидинов пръстен са 10 пъти по-активни при теста с азотен оксид ( $\text{NO}^\bullet$ ) от

останалите кумарини с изоксазолидинов пръстен. Предложен бе механизъм за улавяне на радикали във водна среда с цел да се обясни тази активност.

13. Mincheva I, Zaharieva M, Batovska D, Najdenski H, Ionkova I, Kozuharova E. Antibacterial activity of extracts from *Potentilla reptans* L. *Pharmacia*. 2019; 66(1): 7–11. DOI: 10.3897/pharmacia.66.e35293.

**Abstract:** *Potentilla reptans* is widely used in traditional medicine as an astringent, for treating diarrhea, hemorrhoids and for bleeding gums. A recent ethnobotanical study has reported on the anti-mastitis effects of the aerial parts of *P. reptans* decoction. The aim of the present study is to evaluate the antibacterial potential of extracts and fractions, obtained from aerial parts of *P. reptans* against three strains of *Staphylococcus aureus*. The observed MICs were within the range of 0.325 – 2.5 mg/ml. Studied extracts and their fractions exerted mostly bacteriostatic effect, with the n-hexane fraction of hydroethanolic extract being the most active (MIC 0.313 mg/ml against *S. aureus* ATCC 6538 P). However, further investigations are necessary to reveal the precise mode of action of *P. reptans* against mastitis.

**Резюме:** *Potentilla reptans* се използва широко в традиционната медицина като адстрингент, за лечение на диария, хемороиди и при кървене на венците. Скорошно етноботаническо проучване съобщава за антимаститните ефекти на надземните части на отвара от *P. reptans*. Целта на настоящото изследване е да се оцени антибактериалният потенциал на екстракти и фракции, получени от надземни части на *P. reptans* срещу три щамове на *Staphylococcus aureus*. Наблюдаваните MIC са в диапазона от 0.325 – 2.5 mg/ml. Изследваните екстракти и техните фракции проявяват предимно бактериостатичен ефект, като най-активна е n-хексановата фракция на хидроетаноловия екстракт (MIC 0.313 mg/ml срещу *S. aureus* ATCC 6538 P). Въпреки това са необходими допълнителни изследвания, за да се разкрие точният механизъм на действие на *P. reptans* срещу мастит.

14. Sinha S, Medhi B, Radotra B, Batovska D, Markova N, Bhalla A, Sehgal R. Antimalarial and immunomodulatory potential of chalcone derivatives in experimental model of malaria. *BMC Complement Med Ther*. 2022; 22(1): 1-14. DOI: 10.1186/s12906-022-03777-w.

**Abstract:** Background: Malaria is a complex issue due to the availability of few therapies and chemical families against *Plasmodium* and mosquitoes. There is increasing resistance to various drugs and insecticides in *Plasmodium* and in the

vector. Additionally, human behaviors are responsible for promoting resistance as well as increasing the risk of exposure to infections. Chalcones and their derivatives have been widely explored for their antimalarial effects. In this context, new derivatives of chalcones have been evaluated for their antimalarial efficacy. Methods: BALB/c mice were infected with *P. berghei* NK-65. The efficacy of the three most potent chalcone derivations (**1**, **2**, and **3**) identified after an in vitro compound screening test was tested. The selected doses of 10 mg/kg, 20 mg/kg, and 10 mg/kg were studied by evaluating parasitemia, changes in temperature, body weights, organ weights, histopathological features, nitric oxide, cytokines, and ICAM-1 expression. Also, localization of parasites inside the two vital tissues involved during malaria infections was done through a transmission electron microscope. Results: All three chalcone derivative treated groups showed significant ( $p < 0.001$ ) reductions in parasitemia levels on the fifth and eighth days of post-infection compared to the infected control. These derivatives were found to modulate the immune response in a *P. berghei* infected malaria mouse model with a significant reduction in IL-12 levels. Conclusions: The present study indicates the potential inhibitory and immunomodulatory actions of chalcones against the rodent malarial parasite *P. berghei*.

**Резюме:** Предистория: Сложен проблем при маларията е наличието на малко терапии и химични съединения с активност срещу *Plasmodium* и комари. Налице е нарастваща резистентност в *Plasmodium* и във вектора към различни лекарства и инсектициди. Освен това човешкото поведение е отговорно за насърчаване на резистентността, както и за увеличаване на риска от излагане на инфекции. Халконите и техните производни са широко изследвани за анти-маларийни ефекти. В този контекст нови производни на халконите бяха оценени за тяхната антималярийна ефикасност. Методи: BALB/c мишки бяха заразени с *P. berghei* NK-65. Тествана бе ефикасността на трите най-активни халкона (**1**, **2** и **3**), идентифицирани след in vitro тест за скрининг. Избраните дози от 10 mg/kg, 20 mg/kg и 10 mg/kg бяха изследвани чрез оценка на паразитемията, промените в температурата, телесното тегло, теглото на органите, хистопатологичните характеристики, азотния оксид, цитокините и експресията на ICAM-1. Също така, локализирането на паразити в двете жизненоважни тъкани, участващи по време на маларийни инфекции, беше извършено чрез трансмисионен електронен микроскоп. Резултати: И трите групи, третирани с халкони, показват значително ( $p < 0,001$ ) намаление на нивата на паразитемия на петия и осмия ден след заразяването в сравнение със заразената контрола. Установено е, че тези производни модулират имунния отговор в модел на мишка, заразен с *P. berghei*, със значително намаляване на нивата на IL-12. Заключение: Настоящото изследване разкрива потенциалните инхибиторни и имуномодулиращи действия на халконите срещу маларийния паразит на гризачите *P. berghei*.

15. Pasdaran A, Butovska D, Kerr P, Naychov Z, Aneva I, Kozuharova E. Gentians, natural remedies for future of visceral pain control; an ethnopharmacological review with an in silico approach. *Biol Futura*. 2022; 73(2): 219-227. DOI: 10.1007/s42977-022-00114-7.

**Abstract:** Different gentian preparations are used as traditional remedies for internal pain control in: Persian traditional medicine (PTM), Chinese traditional medicine (CTM) and Ancient Greek medicine (AGM) from the time of the Roman Empire. Objective: To present a survey of the ethnopharmacological applications of gentians recorded as being used in Eastern and Western traditional medical systems (PTM, CTM and AGM) and their pharmacological effects, chemical composition as well as an *in silico* investigation of the possible active component/s for the alleviation of internal pain via molecular docking studies. Major traditional medicine literature (PTM, CTM and AGM, 50 AD-1770) and ethnobotanical studies for the application of gentians were reviewed. Nine European species representing 5 of the 13 sections currently attributed to *Gentiana* were selected. Chemical compounds and pharmacological activity data of these species were gathered from different databases including Google Scholar, PubChem, PubMed and Web of Science (between 1972 and 2020). The possible active constituents of gentians on visceral pain receptors were investigated, *in silico*. In all investigated literature, traditional uses of gentian were indicated to have anti-nociceptive effects on visceral pain and possess diuretic action. According to our computational study, acylated flavonoid glycosides, viz. *trans*-feruloyl-2"-isovitexin (33), *trans*-feruloyl-2"-isovitexin-4'-O- $\beta$ -D-glucoside (34), *iso*-orientin-4'-O-glucoside (38), *trans*-cafeoyl-2"-*iso*-orientin-4'-O- $\beta$ -D-glucoside (39), *iso*-orientin-2"-O- $\beta$ -D-glucoside (40) and isoscoparin (41), might be responsible for visceral pain reduction by interacting with the purinergic receptor (P2X3) and vanilloid receptor 1 (TrpV1). This finding shows a good correlation with different traditional gentian uses in Persian, Chinese and European ethnomedicine for visceral pain control.

**Резюме:** Различни препарати от тинтява се използвани като традиционни средства за контрол на болката в: Персийската традиционна медицина (PTM), Китайската традиционна медицина (CTM) и Древногръцката медицина (AGM) от времето на Римската империя. Цел: Представяне на преглед на етнофармакологичните приложения на тинтявата, регистрирани като използвани в източните и западните традиционни медицински системи (PTM, CTM и AGM) и техните фармакологични ефекти, химичен състав, както и *in silico* изследване на възможния активен компонент/и за облекчаване на болка чрез молекулярни докинг изследвания. Бяха прегледани основната литература по традиционна медицина (PTM, CTM и AGM, 50 AD-1770) и етнobotаническите изследвания за приложението на тинтявата. Бяха избрани девет европейски вида, представляващи 5 от 13-те секции, които понастоящем се приписват на *Gentiana*. Данните за химичните съединения и фармакологичната активност на тези видове бяха събрани от различни бази данни, включително Google Scholar, PubChem, PubMed и Web of Science (между 1972 и 2020 г.). Възможните активни съставки на тинтявата върху рецепторите за висцерална болка бяха изследвани *in silico*. Във цялата проучена литература се посочва, че традиционната употреба на тинтява има антиноцицептивен ефект върху висцералната болка и притежава диуретично действие. Според нашето изчислително изследване, ацилираните флавоноидни гликозиди, т.е. *транс*-ферулоил-2"-изовитексин (33), *транс*-ферулоил-2"-изовитексин-4'-O- $\beta$ -D-глюкозид (34), *изо*-ориентин-4'-O-глюкозид (38), *транс*-кафеоил-2"-*изо*-ориентин-4'-O- $\beta$ -D-глюкозид (39), *изо*-ориентин-2"-O- $\beta$ -D-глюкозид (40) и изоскопарин (41), може да са отговорни за висцерални намаляване

на болката чрез взаимодействие с пуринергичния рецептор (P2X3) и ванилоидния рецептор 1 (TrpV1). Това откритие показва добра корелация с различни традиционни употреби на тинтявата в персийската, китайската и европейската етномедицина за контрол на висцералната болка.

16. Pasdaran A, Naychov Z, Batovska D, Kerr P, Favre A, Dimitrov V, Aneva I, Hamedi A, Kozuharova E. Some European *Gentiana* species are used traditionally to cure wounds: Bioactivity and conservation issues. *Diversity*. 2023; 15(3):467. DOI: 10.3390/d15030467.

**Abstract:** Wound care will always be among the main tasks in all surgical specialties. Several medicinal plants have proven efficacy to cure wounds. Ethnobotanical research and ethnopharmacological research have virtually endless potential to find new lead compounds. The aim of this research review is to assess the potential of some *Gentiana* species as sources of promising active compounds to support wound healing. Gentians are among the most popular medicinal plants used in many countries for a wide spectrum of health conditions. Traditionally, those used to cure wounds are *Gentiana lutea*, *G. punctata*, *G. asclepiadea*, *G. cruciata*, *G. oliverii*, *G. septemphida*, and *G. gelida*. Candidate compounds with skin regeneration and wound-healing potential isolated from gentians are isogentisin, isoorientin, mangiferin, lupeol, pinosresinol, syringaresinol, eustomoside, and sweroside. Based on the rich source of traditional knowledge on the properties of gentians to cure various skin and soft tissue complications; only very few modern pharmacological studies have been performed to test this potential. Our review demonstrates that this field deserves further investigation. Many gentians are declining in number and have high IUCN conservation status, and cultivation and micropropagation methods are the only solution for the development of new drugs based on gentian extracts.

**Резюме:** Грижата за раната винаги ще бъде сред основните задачи във всички хирургични специалности. Няколко лечебни растения имат доказана ефикасност за лечение на рани. Етноботаническите изследвания и етнофармакологичните изследвания имат практически безкраен потенциал за намиране на нови лидерни съединения. Целта на този обзор е да оцени потенциала на някои видове *Gentiana* като източници на обещаващи активни съединения за подпомагане заздравяването на рани. Тинтявите са сред най-популярните лечебни растения, използвани в много страни за широк спектър от здравословни състояния. Традиционно тези, използвани за лечение на рани, са *Gentiana lutea*, *G. punctata*, *G. asclepiadea*, *G. cruciata*, *G. oliverii*, *G. septemphida* и *G. gelida*. Кандидат съединения с регенерация на кожата и потенциал за заздравяване на рани, изолирани от тинтява, са изогентизин, изоориентин, мангиферин, лупеол, пинорезинол, сирингарезинол, еustomозид и сверозид. Въпреки богатия източник на традиционни знания за свойствата на тинтявата да лекува различни усложнения по кожата и меките тъкани; много малко съвременни фармакологични изследвания са извършени за тестване на този потенциал. Нашият обзор показва, че

тази област заслужава допълнително проучване. Много тинтяви намаляват на брой и имат висок статус на опазване в IUCN, а методите за култивиране и микро-размножаване са единственото решение за разработването на нови лекарства на базата на екстракти от тинтява.

17. Kozuharova E, Simeonov V, Batovska D, Stoycheva C, Valchev H, Benbassat N. Lavender essential oil from Bulgaria and its pharmacological effects. *Pharmacia*. 2023; 70(2): 395-403. DOI: 10.3897/pharmacia.70.e104404.

**Abstract:** Lavender essential oil is economically important and widely used in aromatherapy perfumery, food industry and pharmacy. Bulgaria is a global leader in lavender cultivation overtaking countries such as France, UK, China, India, and Spain during the last few years. The aim of this research is: 1) to characterize a lavender essential oil sample obtained from agricultural plantation near Pomorie, Bulgaria; 2) to perform descriptive statistical test based on a data set of 13 samples available in 4 publications, 3) to compare the varieties regarding the quantity of the most important components such as linalool and linalyl acetate 4) to summarize the pharmacological effects of the main components. As a result of GS/MS analysis of the essential oil sample obtained from agricultural plantation near Pomorie, we identified 44 compounds. The major constituents were linalyl acetate (27.5%) linalool (24.1%), E- $\beta$ -ocimene (7.0%), terpinen-4-ol (5.1%) caryophyllene (4.5%), carvacrol (4.4%), lavandulyl acetate (3.5%), Z- $\beta$ -farnesene (3.3%), and Z- $\beta$ -ocimene (3.2%). Linalool and linalyl acetate are the main ingredients based on which the quality of the essential oil is evaluated. In the studied samples they fluctuated between varieties depending on the year of extraction and the locations of origin in Bulgaria. Some varieties were characterized by a more stable ratio of linalool – linalyl acetate, compared to others. The main other components of our sample as well as the other examined Bulgarian samples fit the standards according to the requirements of ISO (2002) and the of European Pharmacopoeia (10th edn., Council of Europe 2020) with few exceptions. Lavender oil has numerous pharmacological applications based on its anxiolytic, sedative, antioxidant, anti-inflammatory, antitumor and antimicrobial activities. Although linalool and linalyl acetate largely contribute to these effects, the overall efficacy of lavender oil is proven to be due synergistic relationships between the components.

**Резюме:** Етеричното масло от лавандула е икономически важно и широко използвано в ароматерапевтичната парфюмерия, хранително-вкусовата промишленост и фармацевтиката. България е световен лидер в отглеждането на лавандула, изпреварвайки през последните години страни като Франция, Великобритания, Китай, Индия и Испания. Целта на това изследване е: 1) да се характеризира проба от етерично масло от лавандула, получена от земеделска плантация край Поморие, България; 2) да се извърши описателен статистически тест



въз основа на набор от данни от 13 проби, налични в 4 публикации, 3) да се сравнят разновидностите по отношение на количеството на най-важните компоненти като линалол и линалил ацетат 4) да се обобщят фармакологичните ефекти на основните компоненти. В резултат на GS/MS анализ на проба от етерично масло, получена от земеделска плантация край Поморие, идентифицирахме 44 съединения. Основните съставки са линалил ацетат (27.5%) линалол (24.1%), E- $\beta$ -оцимен (7.0%), терпинен-4-ол (5.1%) кариофилен (4.5%), карвакрол (4.4%), лавандулил ацетат (3.5%), Z- $\beta$ -фарнезен (3.3%) и Z- $\beta$ -оцимен (3.2%). Линалол и линалил ацетат са основните съставки, по които се оценява качеството на етеричното масло. В изследваните проби те варират между сортовете в зависимост от годината на добиване и местонахожденията в България. Някои сортове се характеризират с по-стабилно съотношение линалол – линалил ацетат в сравнение с други. Другите основни компоненти на нашата проба, както и на другите изследвани български проби, отговарят на стандартите, определени от ISO (2002) и от Европейската фармакопея (10-то издание, Съвет на Европа 2020) с малки изключения. Лавандуловото масло има многобройни фармакологични приложения, базирани на неговата антианксиолитична, седативна, антиоксидантна, противовъзпалителна, противотуморна и антимикробна активност. Въпреки че линалол и линалил ацетат до голяма степен допринасят за тези ефекти, е доказано, че общата ефикасност на лавандуловото масло се дължи на синергичните връзки между компонентите.

18. Kozuharova E, Batovska D, Stoycheva K, Favre A. Secondary metabolites from some gentians and their defense against seed predators. *Biochem Syst Ecol.* 2023; 110, 104701. DOI: 10.1016/j.bse.2023.104701.

**Abstract:** We discovered a strong reduction of fruit set in some *Gentiana* species, while studying their breeding systems and pollination ecology in the Bulgarian mountains. The fruit set of five species belonging to *Gentiana* section *Gentiana* (*G. asclepiadea*, *G. lutea* subsp. *symphyandra*, *G. punctata*), *G.* sect. *Cruciata* (*G. cruciata*) and to some extent to *G.* sect. *Pneumonanthe* (*G. pneumonanthe*) was notably reduced due to predation of various insect larvae. The seeds of four species belonging to *G.* sect. *Calathianae* (*G. verna*, *G. utriculosa*, and *G. nivalis*) and *G.* sect. *Chondrophyllae* (*G. pyrenaica*) remained consistently unharmed. Our observations indicate that a phytochemical defense may have evolved as adaptation to predation in some *Gentiana* lineages and not in others, for example, in the form of specific repellent or insecticidal secondary metabolites. By reviewing the available literature, the aim of our study is thus to investigate whether an adaptation to fruit and seed predation occurs either by excluding phenological and ecological factors, allowing some species to avoid pests, or identifying species-specific metabolites which may be involved in the phytochemical defense of some species. Throughout the study, we take the evolutionary context of *Gentiana* into account. Generally, we found that the most abundant secondary metabolites in *Gentiana* (iridoids, flavonoids and xanthones), were disproportionately studied across the sections. Species which were

best phytochemically characterized were the medicinal plants of *G.* sect. *Gentiana*, whereas members of *G.* sect. *Calathianae* were only represented by relatively scarce secondary metabolites data. Nevertheless, we discuss secondary metabolites of gentians that are possibly involved in the attraction, oviposition, deterrence, and feeding of various insect orders. Our review highlights some individual components that may be involved in these processes; and by identifying gaps in the data available, we set the base for further integrated investigations designed to disentangle the complex interactions between seed predation and chemical defense and their variation through time and space.

**Резюме:** Докато изучавахме системите за размножаване и екологията на опрашване на тинтявите в българските планини, открихме силно намаляване на плодовете в плодния сак на някои видове. Броят на плодовете от пет вида, принадлежащи към *Gentiana* section *Gentiana* (*G. asclepiadea*, *G. lutea* subsp. *symphyandra*, *G. punctata*), *G.* sect. Круциата (*G. cruciata*) и донякъде на тези от *G.* sect. *Pneumonanthe* (*G. pneumonanthe*) беше значително намален поради хищничество на ларвите на различни насекоми. Семената на четири вида, принадлежащи към *G.* sect. *Calathianae* (*G. verna*, *G. utriculosa* и *G. nivalis*) и *G.* sect. *Chondrophyllae* (*G. pyrenaica*) оставаха постоянно невредими. Нашите наблюдения показаха, че фитохимичната защита може да се е развила като адаптация към хищничеството в някои линии *Gentiana*, а не в други, например под формата на специфични репеленти или инсектицидни вторични метаболити. Чрез преглед на наличната литература, целта на нашето изследване бе да се проучи как възниква адаптацията на плодовете и семената към хищничеството. Нашата стратегия бе да се разгледат фенологични и екологични фактори, които позволяват на някои видове да избягват вредители и да се идентифицират специфични за видовете метаболити, които могат да участват в фитохимичната им защита. По време на проучването ние взехме под внимание еволюционния контекст на *Gentiana*. Като цяло открихме, че най-разпространените вторични метаболити в *Gentiana* (иридоиди, флавоноиди и ксантони) са непропорционално изследвани в секциите. Видовете, които са най-добре фитохимично охарактеризирани, са лечебните растения от *G.* sect. *Gentiana*, докато членовете на секция *G. Calathianae* бяха представени само от относително оскъдни данни за вторични метаболити. Въпреки това, ние обсъждаме вторичните метаболити на тинтявата, които вероятно участват в привличането, яйцепологането, възпирането и храненето на различни групи насекоми. Нашият преглед подчертава кои отделни компоненти могат да участват в тези процеси; и чрез идентифициране на пропуски в наличните данни, ние поставяме основата за по-нататъшни интегрирани изследвания, предназначени да разграничат сложните взаимодействия между хищничеството на семената и химическата защита и тяхното изменение във времето и пространството.

19. Sinha S, Medhi B, Radotra BD, Batovska D, Markova N, Sehgal R. Evaluation of chalcone derivatives for their role as antiparasitic and neuroprotectant in experimentally induced cerebral malaria mouse

model. 3 Biotech. 2023; 13(7): 260. DOI: 10.1007/s13205-023-03676-y.

**Abstract:** Cerebral malaria is a severe complication of Plasmodium falciparum infection with a complex pathophysiology. The current course of treatment is ineffective in lowering mortality or post-treatment side effects such as neurological and cognitive abnormalities. Chalcones are enormously distributed in spices, fruits, vegetables, tea, and soy-based foodstuffs that are well known for their antimalarial activity, and in recent years they have been widely explored for brain diseases like Alzheimer's disease. Therefore, considering the previous background of chalcones serving as both antimalarial and neuroprotective, the present study aimed to study the effect of these chalcone derivatives on an experimental model of cerebral malaria (CM). CM-induced mice were tested behaviorally (elevated plus maze, Rota rod test, and hanging wire test), biochemically (nitric oxide estimation, cytokines (IL-1, IL-6, IL-10, IL-12p70, TNF, IFN- $\gamma$ ), histopathologically and immunohistochemically, and finally ultrastructural changes were examined using a transmission electron microscope. All three chalcones treated groups showed a significant ( $p < 0.001$ ) decrease in percentage parasitemia at the 10th day post-infection. Mild anxiolytic activity of chalcones as compared to standard treatment with quinine has been observed during behavior tests. No pigment deposition was observed in the QNN-T group and other chalcone derivative treated groups. Rosette formation was seen in the derivative **1** treated group. The present derivatives may be pioneered by various research and science groups to design such a scaffold that will be a future antimalarial with therapeutic potential or, because of its immunomodulatory properties, it could be used as an adjunct therapy.

**Резюме:** Церебралната малария е тежко усложнение на инфекцията с Plasmodium falciparum, което протича със сложна патофизиология. Използваният понастоящем курс на лечение е неефективен за намаляване на смъртността или страничните ефекти след лечението, като неврологични и когнитивни аномалии. Халконите са широко разпространени в подправките, плодовете, зеленчуците, чая и храните на основата на соя, които са добре известни със своята антималярийна активност, а през последните години са изследвани при мозъчни заболявания като болестта на Алцхаймер. Предвид антималярийните и невропротективни ефекти на халконите, настоящото изследване има за цел да проучи ефекта на тези съединения върху експериментален модел на церебрална малария (CM). CM-Индуцирани мишки бяха тествани поведенчески (издигнат плус лабиринт, тест с рота пръчка и тест с висяща тел), биохимично (оценка на азотен оксид, цитокини (IL-1, IL-6, IL-10, IL-12p70, TNF, IFN- $\gamma$ ), хистопатологично и имунохистохимично и накрая ултраструктурните промени бяха изследвани с помощта на трансмисионен електронен микроскоп. И трите групи, третирани с халкони, показаха значително ( $p < 0,001$ ) намаление на процента паразитемия на 10-ия ден след инфекцията. Лека анксиолитична активност на халконите бе наблюдавано по време на поведенческите тестове в сравнение със стандартното лечение с хинин. Не бе наблюдавано отлагане на пигмент в

групата, лекувана с QNN-T и други групи, лекувани с халкони. Образоването на розетка е наблюдавано в групата, третирана със съединение **1**. Трите халкона могат да бъдат използвани от различни изследователски и научни групи да за създаване на антималярийно средство с терапевтичен потенциал или като допълнителна терапия поради имуномодулиращите им свойства.

20. Mehandzhiyski A, Tsvetkova I, Najdenski H, Batovska D. Synthesis of chalcones and their heterocyclic analogues with potential antibacterial activity. *Bulg J Chem.* 2012; 1: 53-59.

**Abstract:** A series of 12 chalcones (**1-12**) with potential antibacterial activity was synthesized by the Claisen-Schmidt condensation between variously substituted acetophenones and aryl aldehydes. The compounds of choice were selected to contain 4'-methoxyphenyl-, 4'-cyanophenyl-, 4'-hydroxyphenyl- or phenyl group as the **ring A** and 4-chlorophenyl-, 4-nitrophenyl-, 4-cyanophenyl-, 3,4,5-trimethoxyphenyl- (**1-8**) or indolyl- (**9-12**) functions as the **ring B** in the chalcones skeleton. The electronic effects of the substituents on the reaction yields were estimated. Presence of electron-donating substituents in the p-position of the aromatic rings of starting reagents favored obtaining high yields of chalcones (52-91%). During the reaction between 4-cyanobenzaldehyde and 4-cyanoacetophenone, the Michael adduct **13** was obtained instead of the expected chalcone. The structure of all the compounds synthesized was elucidated by spectral methods (UV, IR, <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR). Tests for the antibacterial activity of the chalcones were conducted towards three Gram-positive pathogenic bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, and *Corynebacterium diphtheriae*. The results obtained were compared with those published in the literature for chalcones with strong activity. It turned out that the selected combinations of substituents in aromatic rings of the synthesized chalcones did not improve the antibacterial activity of these compounds.

**Резюме:** Посредством алдолна кондензация по Клайзен-Шмидт между заместени ацетофенони и ароматни алдехиди бе синтезирана серия от 12 разнообразно заместени халкони (**1-12**) с потенциална антибактериална активност. Получените съединения бяха подбрани да съдържат 4'-метоксифенилов, 4'-цианофенилов, 4'-хидроксифенилов или фенилов заместител като **пръстен А** и 4-хлорофенилов, 4-нитрофенилов, 4-цианофенилов, 3,4,5-триметоксифенилов (**1-8**) или индол (**9-12**) заместител като **пръстен В** в халконовия скелет. Оценено бе влиянието на електронните ефекти върху добивите на целевите продукти. Установено бе, че наличието на електрондонорни заместители на 4-та позиция в ароматните ядра на изходните съединения благоприятства получаването на халкони във високи добиви (52-91%). При реакция между 4-цианобензалдехид и 4-цианоацетофенон, вместо очаквания продукт с халконова структура, бе изолиран адукт на присъединяване по Михаел **13**. Структурата на всички съединения беше доказана с помощта на спектрални методи (УВ, ИЧ, <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР). Проведени бяха тестове за антибактериална активност срещу три Грам-

положителни бактерии: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* и *Corynebacterium diphtheriae*. Сравнителен анализ на получените резултати с литературни данни за халкони с висока активност, показва че така избраните комбинации от заместители в ароматните ядра на синтезираните халкони не водят до повишаване на антибактериалната активност.