

## Група от показатели В

Хабилитационен труд - научни публикации в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация

### № 1

#### *Влияние на типа земеползване върху разнообразието на естествената растителност*

Изследванията върху влиянието на земеделските практики на растителното разнообразие предоставят съществена информация както за формулирането на политики, така и за опазването на околната среда. Настоящото проучване има за цел да оцени разнообразието на естествената растителност в агроecosистемите на два контрастни региона в България – Пазарджишко–Пловдивския район (представящ равнинни агроecosистеми) и Западна Стара планина, характеризираща предпланински агроecosистеми.

В рамките на двугодишно изследване беше извършена оценка на растителното разнообразие в различни типове земеделски и горски ecosистеми, обхващащи над 30 типа земеползване. Установено беше, че влиянието на типа земеползване върху видовото богатство (изразено чрез броя на видовете) е статистически значимо единствено за региона Пазарджик–Пловдив. В същото време по-съществено въздействие оказва групирането на типовете земеползване, особено когато разнообразието се оценява чрез средния брой видове на пробна площадка.

Климатичните условия, характеризирани чрез 19 биоклиматични променливи, се очертаха като водещ фактор, определящ видовото разнообразие на растенията. Шест от тези променливи оказват статистически значимо влияние, като ефектът им се засилва при анализ на обединените данни от двата региона.

Най-високи стойности на растителното разнообразие са регистрирани в пасища с разрежена дървесна растителност, докато най-ниски – при земи, използвани за отглеждане на едногодишни култури или оставени под угар. Проучването допринесе и за създаването на база данни за плевелната флора със значение за земеделието. В Пазарджишко–Пловдивския регион се установява преобладаване на широко разпространени плевелни видове, докато в Западна Стара планина доминират автохтонни видове.

Като цяло, естествената флора на Западна Стара планина се характеризира с по-висока степен на съхраненост. В пасищните и ливадните съобщества на този регион са установени единадесет вида орхидеи с висока консервационна значимост.

Настоящото изследване представлява първи опит за цялостна характеристика на растителното разнообразие в България в широк спектър от агроecosистеми, обхващащи разнообразни типове земеползване и екологични условия. Получените резултати имат потенциал да подпомогнат опазването на природата, съхраняването на биоразнообразието и устойчивото управление на растителните ресурси.

Aneva I., Zhelev P., Lukanov S., Peneva M., Vassilev K., Zheljazkov V. 2020. **Influence of the land use type on the wild plant diversity**. Plants, 9, 602; IF: 3.9, Q1. <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/5/602>

Studies on the impact of agricultural practices on plant diversity provide important information for policy makers and the conservation of the environment. The aim of the present work was to evaluate wild plant diversity across the agroecosystems in two contrasting regions of Bulgaria; Pazardzhik-Plovdiv (representing agroecosystems in the lowlands) and Western Stara Planina (the Balkan Mountains, representing agroecosystems in the foothills of the mountains). This study conducted a two-year assessment of plant diversity in different types of agricultural and forest ecosystems, representing more than 30 land use types. Plant diversity, measured by species number, was affected by the land use type only in Pazardzhik-Plovdiv region. More pronounced was the effect of the groups of land use types on the diversity, measured by the mean species number per scoring plot. Climatic conditions, measured by 19 bioclimatic variables, were the most important factor affecting plant species diversity. Six bioclimatic variables had a significant effect on the plant diversity, and the effect was more pronounced when the analysis considered pooled data of the two regions. The highest plant diversity was found on grazing land with sparse tree cover, while the lowest one was in the land use types representing annual crops or fallow. The study also established a database on weed species, relevant to agriculture. A number of common weeds were found in the Pazardzhik-Plovdiv region, while the most frequent species in the Western Stara Planina region were indigenous ones. Overall, the natural flora of Western Stara Planina was more conserved; eleven orchid species with conservation significance were found in the pastures and meadows in that region. The present study is the first attempt in Bulgaria to characterize the plant diversity across diverse agroecosystems representing many different land use types and environmental conditions. The results can contribute to nature conservation, biodiversity, and the sustainable use of plant resources.

\*\*\*

## № 2

### ***ДНК баркодиране при изследване на представителни видове от род *Thymus* в България***

Настоящото изследване представя цялостен молекулярен анализ на таксономията и филогенетичните взаимоотношения на единадесет вида от род *Thymus*, естествено разпространени в България и принадлежащи към две основни таксономични секции. Предвид високата таксономична сложност на рода, обусловена от значителна морфологична изменчивост, хибридизация и висок дял на ендемизъм, ДНК баркодирането е използвано като допълващ подход към класическите таксономични методи.

Анализираните бяха четири широко използвани маркера (*matK*, *rbcL*, *trnH-psbA* и *ITS*) с цел оценка на тяхната ефективност за разграничаване на видовете и изясняване на генетичните взаимоотношения. Получените резултати показват съществена вариабилност в информативността на отделните маркери. Пластидният маркер *rbcL* се

характеризира с най-ниска дискриминационна способност, докато *trnH-psbA* и *matK* осигуряват умерена резолюция, но без да водят до последователни таксономични групировки. Най-висока ефективност при разграничаването на близкородствени таксони показва ядрената област *ITS*, която позволява и по-добро групиране на пробите от един и същи вид.

Независимо от това, нито един от използваните маркери не демонстрира пълно съответствие с класификациите, основани на морфологични признаци. Филогенетичните анализи разкриват редица несъответствия, включително групиране на морфологично различни видове и генетична диференциация в рамките на близкородствени таксони. Тези резултати отразяват сложната еволюционна история на род *Thymus*, свързана с хоризонтална еволюция, генен поток и изолационни процеси.

Комбинирането на различни баркод маркери не води до съществено подобряване на таксономичната резолюция, а приложението на BLAST анализи е ограничено поради недостатъчно представяне на балканските таксони в публичните бази данни.

В обобщение, резултатите подчертават както потенциала, така и ограниченията на ДНК баркодирането при изследването на таксономично сложни растителни групи. Настоящото проучване представлява важна стъпка към съвременен преразглеждане на таксономията на род *Thymus* в България и акцентира върху необходимостта от интегриран подход, съчетаващ молекулярни, морфологични и популационно-генетични данни.

Aneva I., Zhelev P., Bonchev G., Boycheva I., Simeonova S., Kancheva D. 2022. **DNA Barcoding Study of Representative *Thymus* Species in Bulgaria**, *Plants* 11(3): 1-10, IF: 4.658, Q1. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35161250/>

This study presents a comprehensive molecular assessment of the taxonomy and phylogenetic relationships of eleven *Thymus* species naturally occurring in Bulgaria, representing two major taxonomic sections. Given the well-known complexity of the genus, characterized by high morphological variability, hybridization, and significant endemism, DNA barcoding was employed as a complementary approach to traditional taxonomy.

Four widely used plant DNA barcode markers (*matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, and *ITS*) were analyzed to evaluate their effectiveness in species discrimination and to infer genetic relationships. The results demonstrate substantial variability in marker performance. The plastid marker *rbcL* exhibited very low discriminatory power, while *trnH-psbA* and *matK* provided moderate resolution but failed to produce consistent taxonomic groupings. Among the tested markers, the nuclear *ITS* region showed the highest potential for distinguishing closely related taxa and grouping conspecific samples.

Despite these differences, none of the markers yielded fully congruent results with morphology-based classifications. Phylogenetic analyses revealed incongruences such as the clustering of morphologically distinct species and genetic differentiation within closely related taxa. These patterns reflect the intrinsic complexity of *Thymus*, likely driven by reticulate evolution, gene flow, and historical isolation processes.

The combined use of multiple barcode regions did not significantly improve taxonomic resolution, and BLAST-based identification was limited due to insufficient representation of Balkan taxa in public databases. Overall, the findings highlight both the potential and the limitations of DNA barcoding in resolving taxonomically complex plant groups.

This work represents an important step toward a modern revision of *Thymus* taxonomy in Bulgaria and underscores the need for integrative approaches combining molecular, morphological, and population-level data to achieve a robust and biologically meaningful classification.

\*\*\*

### № 3

#### ***Sideritis elica* – нов вид от семейство Lamiaceae, установен чрез морфологичен и молекулярно-филогенетичен анализ**

Настоящото изследване описва *Sideritis elica* като нов за науката вид, разпространен в Централните Родопи (България), установен чрез интегриран таксономичен подход, съчетаващ детайлен морфологичен анализ и ДНК баркодиране. Род *Sideritis* се характеризира с висока таксономична сложност, особено в рамките на секция *Empedoclia*, в която значителната морфологична вариабилност и наличието на криптични таксони затрудняват ясното видово разграничаване.

Морфометричните анализи показват, че популацията от резерват „Червената стена“ се отличава съществено от останалите популации, отнасяни към *Sideritis scardica*. Новият вид се характеризира с по-високи и по-силно разклонени стъбла, гъсто бяло вълнесто овласиняване, придаващо на растенията почти белезникав облик, както и със специфични пропорции на горните листни двойки, които са по-къси и по-широки. Тези различия са ясно илюстрирани в сравнителните морфологични данни.

Молекулярните анализи, базирани на ДНК баркод маркерите *rbcL* и *trnH-psbA*, потвърждават морфологичните наблюдения, като разкриват отчетлива генетична диференциация между двата таксона. Установена е значителна генетична дистанция между популациите, достигаща до 6.8% полиморфизъм при *trnH-psbA*, както и наличие на популационно-специфични нуклеотидни вариации при липса на вътревидов полиморфизъм в рамките на *S. elica*. Филогенетичните анализи допълнително подкрепят обособяването на родопската популация като самостоятелна еволюционна линия.

Новият вид представлява тесен ендемит, разпространен върху варовикови местообитания в резерват „Червената стена“. Изключително малкият размер на популацията определя критичното му природозащитно състояние и подчертава необходимостта от спешни мерки за опазване.

Получените резултати подчертават значението на интегрирането на морфологични и молекулярни подходи при изследването на таксономично сложни групи и демонстрират ефективността на ДНК баркодирането за разкриване на скрито растително разнообразие.

Aneva I., Zhelev P., Bonchev G. 2022. *Sideritis elica*, a New Species of Lamiaceae from Bulgaria, Revealed by Morphology and Molecular Phylogeny. Plants 11, 2900, IF: 4,658, Q1. <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/21/2900>

This study describes *Sideritis elica*, a newly identified species from the Central Rhodope Mountains in Bulgaria, revealed through an integrative taxonomic approach combining detailed morphological analyses and DNA barcoding. The genus *Sideritis* is known for its taxonomic complexity, particularly within section *Empedoclia*, where morphological variability and potential cryptic diversity complicate species delimitation.

Comprehensive morphometric analyses demonstrated that the population from the Chervenata Stena reserve significantly differs from other populations traditionally assigned to *Sideritis scardica*. The new species is characterized by taller stems, markedly increased branching, densely lanate indumentum giving the plant a whitish appearance, and distinct proportions of the upper leaf pairs, which are shorter and broader. These diagnostic traits are clearly illustrated in comparative morphological data (see Table on page 4).

Molecular analyses based on DNA barcoding markers (*rbcL* and *trnH-psbA*) corroborate the morphological evidence, revealing clear genetic differentiation between the two taxa. The populations exhibit notable genetic divergence, reaching up to 6.8% polymorphism in the *trnH-psbA* region, with population-specific nucleotide patterns and absence of intra-population variability within *S. elica*. Phylogenetic analyses further support the separation of the Rhodope population as a distinct evolutionary lineage.

The newly described species is a narrow endemic restricted to limestone habitats in the Chervenata Stena Biosphere Reserve. Its extremely small population size highlights its critical conservation status and the urgent need for protective measures.

The results emphasize the importance of integrating morphological and molecular approaches in resolving taxonomically complex groups and demonstrate the utility of DNA barcoding in detecting previously unrecognized plant diversity.

\*\*\*

#### № 4

#### ***Етноботанично и етнофармакологично изследване на лечебните растения в Централни Родопи (България) – Първа част***

Родопите се открояват като един от ключовите региони на Балканския полуостров за съхранение на традиционни знания, свързани с използването на растения. Настоящото изследване представя цялостен етноботаничен анализ на употребата на лечебни растения в Централните Родопи, базиран на полеви данни, събрани от 92 информанти в 29 населени места.

Документирани са общо 114 растителни вида, принадлежащи към 52 семейства и 110 рода, което отразява високо флористично разнообразие и богато традиционно знание. Най-добре представени са семействата Asteraceae, Lamiaceae и Rosaceae, които обхващат значителна част от регистрираните приложения. Основните лечебни употреби са свързани със заболявания на дихателната и храносмилателната система,

следвани от приложения при кожни проблеми, нарушения на нервната система и поддържане на общото здраве.

Най-често използваните форми на приложение са настойки и отвари, като са регистрирани и други начини на употреба, включително пресни растения, компреси и инхалации. Някои видове се отличават с висока честота на цитиране и културна значимост, което подчертава тяхната ключова роля в традиционната медицина. Сред тях особено място заемат представители на род *Thymus*, които се посочват като едни от най-важните лечебни растения.

Проучването показва, че традиционните етноботанични знания в Родопите са все още съхранени, но същевременно са подложени на постепенно отслабване в резултат на социално-икономически промени и прекъсване на предаването между поколенията. Получените резултати подчертават значението на документирането и съхраняването на това знание, както и неговия потенциал за приложение във фармакологията, опазването на биоразнообразието и устойчивото използване на растителните ресурси.

Mincheva I., Naychov Zh., Radev Ch., Aneva I., Rastrelli L., Kozuharova E. 2022. **Ethnobotanical and Ethnopharmacological Study in the Bulgarian Rhodopes Mountains – Part I**, Diversity 14: 1-23, 686. IF: 3.031. Q1 <https://www.mdpi.com/1424-2818/14/8/686>

The Rhodope Mountains represent one of the most biologically and culturally diverse regions in the Balkan Peninsula, where traditional plant knowledge has been relatively well preserved due to historical isolation and limited industrialization. This study provides a comprehensive ethnobotanical survey of medicinal plant use in the Central Rhodopes, Bulgaria, based on field data collected from 92 informants across 29 settlements.

A total of 114 plant species belonging to 52 families and 110 genera were documented, reflecting a high level of floristic diversity and rich traditional knowledge. The most represented families include Asteraceae, Lamiaceae, and Rosaceae, which together account for a substantial proportion of recorded uses. The majority of remedies are associated with the treatment of respiratory and gastrointestinal disorders, followed by applications related to skin conditions, the nervous system, and general health maintenance.

Herbal preparations are predominantly administered as infusions and decoctions, although other forms such as fresh plant use, compresses, and inhalations are also reported. Several species exhibit high cultural importance and frequency of citation, indicating their central role in local healthcare practices. Among them, representatives of the genus *Thymus* are consistently reported as key medicinal taxa.

The study highlights the persistence of traditional ethnobotanical knowledge in the Rhodope region, while also revealing its gradual decline due to socio-economic changes and generational shifts. The findings emphasize the importance of documenting and preserving this knowledge, as well as its potential contribution to pharmacological research, biodiversity conservation, and sustainable use of plant resources.

\*\*\*

**Етноботанично и етнофармакологично изследване в  
българските Родопи: съвременна употреба на лечебни растения  
и тяхното приложение при различни заболявания – Втора част**

Настоящото изследване представя етноботаничен и етнофармакологичен анализ на съвременната употреба на лечебни растения в Централните и Източните Родопи. Данните са събрани чрез полуструктурирани интервюта с 92-ма информанти от 29 населени места.

Общо са документирани 114 растителни вида, използвани за медицински цели. Анализът е извършен чрез количествени етноботанични индекси – фактор на съгласие на информантите (ICF), степен на достоверност (FL) и коефициент на сходство на Jaccard (JI).

Лечебните растения се използват най-често при заболявания на нервната, дихателната, храносмилателната и сърдечно-съдовата система. Установена е висока степен на консенсус между информантите, особено в Централните Родопи. Сравнителният анализ показва умерено сходство между двата региона ( $JI \approx 43\%$ ), при по-голямо видово разнообразие в Централните Родопи.

Mincheva I., Naychov Z., Radev, C., Aneva I., Rastrelli L., Kamusheva M., Nikolov N., Kozuharova E. 2023. **Ethnobotanical and Ethnopharmacological Study in the Bulgarian Mountain Rhodopes: Part II—Contemporary Use of Medicinal Plants**, Diversity, 15(4), 482, IF: 2,4, Q1.

This study presents an ethnobotanical and ethnopharmacological analysis of the contemporary use of medicinal plants in the Central and Eastern Rhodope Mountains (Bulgaria). Data were collected through semi-structured interviews with 92 informants from 29 settlements.

A total of 114 plant species used for medicinal purposes were documented. The analysis was conducted using quantitative ethnobotanical indices, including the informant consensus factor (ICF), fidelity level (FL), and Jaccard similarity index (JI).

Medicinal plants are most frequently used for disorders of the nervous, respiratory, digestive, and cardiovascular systems. A high level of informant consensus was observed, particularly in the Central Rhodopes. Comparative analysis revealed moderate similarity between the two regions ( $JI \approx 43\%$ ), with higher species diversity in the Central Rhodopes.

\*\*\*

**№ 6**

**Традиционна употреба на видовете от род *Thymus* на  
Балканите: етнофармакология, хранителни практики и  
културно наследство**

Видовете от род *Thymus* заемат важно място в традиционната медицина, хранителните практики и културното наследство на Балканския полуостров – регион, отличаващ се с високо флористично разнообразие и дълбоко вкоренени етноботанични традиции. Настоящият обзор представя цялостен синтез на етноботанични и етнофармакологични данни за традиционната употреба на видовете от род *Thymus*,

базиран на публикации от периода 1900–2022 г., обхващащи различни балкански страни.

Документирани са общо 553 сведения за традиционна употреба, които показват висока степен на сходство между различните културни и географски области. Най-често видовете *Thymus* се използват при заболявания на дихателната система, следвани от храносмилателни нарушения, като са регистрирани и приложения при заболявания на нервната, отделителната, сърдечно-съдовата, имунната системи, както и при кожни проблеми. Най-разпространените форми на приложение включват настойки, отвари, инхалации и външни апликации, което отразява широкия спектър на употреба на мащерката в традиционната медицина.

Освен лечебните приложения, видовете от род *Thymus* се използват широко и в хранителните практики – като подправки, билкови чайове, напитки и средства за съхранение на храни, което подчертава тясната връзка между хранене и здраве в традиционната култура на Балканите. Проучването откроява и тяхната културна значимост, включително използването им в ритуали и обредни практики.

Съществен проблем, установен в етноботаничната литература, е честото неправилно приложение на таксономични наименования, особено на *T. serpyllum* и *T. vulgaris*, което затруднява коректната интерпретация на традиционните знания и връзката им с фитохимичните и фармакологичните данни. Това отразява общата таксономична сложност на рода и подчертава необходимостта от по-прецизна видова идентификация.

В обобщение, сходството в традиционните употреби в различните балкански региони потвърждава фармакологичната значимост на видовете от род *Thymus* и съответства на съвременните фитотерапевтични данни. Изследването подчертава необходимостта от интегриране на етноботанични, таксономични и фитохимични подходи за по-пълно разбиране и устойчиво използване на лечебния потенциал на рода.

Aneva I., Marković M., Malovec K.H., Naychov Z., Mincheva I., Stankov-Jovanović V., Kozuharova E. 2026. **Traditional Uses of *Thymus* Species in the Balkans: Ethnopharmacology, Food, and Cultural Heritage.** *Life*. 16(3):452. <https://doi.org/10.3390/life16030452> IF: 3.4, Q1.

*Thymus* species represent an important component of traditional medicine, culinary practices, and cultural heritage across the Balkan Peninsula—a region characterized by high floristic diversity and long-standing ethnobotanical traditions. This review provides a comprehensive synthesis of ethnobotanical and ethnopharmacological data on the traditional uses of *Thymus* taxa, based on literature published between 1900 and 2022, covering multiple Balkan countries.

A total of 553 records of traditional use were documented, revealing a high degree of cross-cultural consistency. The most frequent applications are associated with the treatment of respiratory disorders, followed by gastrointestinal conditions, with additional uses involving the nervous, urinary, cardiovascular, immune, and integumentary systems. Preparations are most commonly administered as infusions, decoctions, inhalations, or topical applications, reflecting the versatility of thyme in traditional healthcare systems.

Beyond medicinal applications, *Thymus* species are widely used in culinary contexts as spices, herbal teas, beverages, and food preservatives, highlighting the close interconnection between diet and health in Balkan traditions. The study also emphasizes the cultural significance of thyme, including its use in rituals and local customs.

A major limitation identified in the ethnobotanical literature is the frequent taxonomic misapplication of species names, particularly *T. serpyllum* and *T. vulgaris*, which complicates the interpretation of traditional knowledge and its linkage to phytochemical and pharmacological data. This issue reflects the broader taxonomic complexity of the genus and highlights the need for improved species-level identification in ethnobotanical research.

Overall, the convergence of traditional uses across different Balkan regions supports the pharmacological relevance of *Thymus* species and aligns well with contemporary phytotherapeutic knowledge. The study underscores the importance of integrating ethnobotanical evidence, taxonomic accuracy, and modern phytochemistry to fully understand and sustainably utilize the therapeutic potential of thyme.

\*\*\*

#### № 7

#### **Видово базиран подход при култивирането на *Thymus*: добив на етерично масло и хемотипна диференциация**

Род *Thymus* се характеризира с висока таксономична сложност и изразен фитохимичен полиморфизъм, които определят неговото икономическо и медицинско значение. Въпреки това съвременните практики на култивиране са ограничени до малък брой видове и често включват химично хетерогенен или таксономично неясно определен растителен материал, което затруднява стандартизацията и постоянството на качеството.

Настоящото изследване представя подход, базиран на видова селекция, чрез сравнителен анализ на култивационните показатели, добива на етерично масло и хемотипната диференциация при шест вида от род *Thymus*, включително три често култивирани (*T. vulgaris*, *T. pulegioides*, *T. × citriodorus*) и три по-слабо проучени балкански таксона (*T. longedentatus*, *T. zugioides*, *T. pannonicus*). Растенията са размножени вегетативно и отглеждани при полеви условия, като последващо е извършена изолация на етерични масла и GC–MS анализ.

Резултатите разкриват съществени междувидови различия както в добива, така и в химичния състав на етеричните масла. Нововъведените видове показват значително по-висок добив, достигащ до 2.3% при *T. longedentatus*, в сравнение с 0.24–0.60% при традиционно култивираните видове. В допълнение, всеки от нововъведените в култура видове се характеризира с ясно изразен и видово специфичен хемотип: цитрален (нерален/гераниален) при *T. longedentatus*, тимолов при *T. zugioides* и сесквитерпенов при *T. pannonicus*. За разлика от тях, традиционните видове демонстрират припокриващи се и по-слабо диференцирани химични профили.

Комбинацията от по-висока продуктивност и ясно изразена хемотипна специфика подчертава предимствата на видовия подход спрямо традиционните практики на

култивиране. Получените резултати показват, че използването на таксономично добре дефинирани и химично стабилни видове създава предпоставки за по-добра стандартизация на суровината, по-висока възпроизводимост на биологичната активност и по-ясна продуктова диференциация.

В обобщение, изследването предлага експериментално обоснована рамка за диверсификация на култивирането на видове от род *Thymus* и подкрепя устойчивото използване на местните балкански растителни ресурси чрез целенасочена видова селекция.

Aneva I., Kozuharova E., Sidjimova B., Sokolov R. 2026. **Species-Based Field Cultivation of *Thymus*: Essential Oil Yield and Chemotype Dierentiation**. Horticulturae 12(2): 195. <https://doi.org/10.3390/horticulturae12020195> IF: 3.0, Q1.

The genus *Thymus* is characterized by pronounced taxonomic complexity and substantial phytochemical polymorphism, which underpin its economic and medicinal importance. However, current cultivation practices rely on a limited number of species and frequently involve chemically heterogeneous or taxonomically undefined plant material, limiting product standardization and quality consistency.

The present study evaluates a species-based cultivation approach by comparing the field performance, essential oil yield, and chemotype differentiation of six *Thymus* species, including three traditionally cultivated taxa (*T. vulgaris*, *T. pulegioides*, *T. × citriodorus*) and three Balkan species with previously underexplored cultivation potential (*T. longedentatus*, *T. zygoides*, *T. pannonicus*). Plants were established through vegetative propagation and cultivated under open-field conditions, followed by hydrodistillation and GC–MS analysis of essential oils.

The results demonstrate substantial interspecific variation in both essential oil yield and chemical composition. The newly introduced species exhibited significantly higher oil yields, reaching up to 2.30% in *T. longedentatus*, compared to 0.24–0.60% in the traditionally cultivated taxa. Moreover, each of the novel species displayed a clearly defined and species-specific chemotype: a citral (neral/geranial)-dominated profile in *T. longedentatus*, a thymol chemotype in *T. zygoides*, and a sesquiterpene-dominated profile in *T. pannonicus*. In contrast, the traditional species showed overlapping and less distinct chemical patterns.

The combination of higher productivity and clear chemotypic differentiation highlights the advantages of species-driven selection over conventional cultivation practices. The results demonstrate that the use of taxonomically well-defined and chemically stable species can significantly improve raw material standardization, reproducibility of biological activity, and product differentiation.

Overall, the study provides a robust experimental framework for the diversification of *Thymus* cultivation and supports the sustainable utilization of native Balkan plant resources through targeted species selection.

\*\*\*

**Флористично и хабитатно разнообразие в представителни тревни съобщества в България**

Естествените и полуестествените тревни екосистеми в България са подложени на нарастващ антропогенен натиск, който води до тяхната деградация и фрагментация. Поради високата им биологична стойност и екологично значение, изследването на флористичния състав и хабитатното разнообразие е от съществено значение за ефективното им опазване и устойчиво управление.

Настоящото изследване оценява флористичното и хабитатното разнообразие на представителни тревни съобщества в България въз основа на 36 пробни площи, разположени главно в източните и северните части на страната. Установени са общо 357 растителни вида и осем типа местообитания. Видовото разнообразие е оценено чрез индексите на Shannon, Simpson и Berger–Parker, като са отчетени съществени различия между отделните хабитати. Стойностите на индекса на Shannon варират от 0.9 до 3.6, като най-високи са регистрирани при субсредиземноморските и субпанонските степни тревни съобщества (хабитати 62A0 и 6240).

Клъстерният анализ на базата на флористично сходство обособява няколко основни групи, съответстващи на различни типове местообитания, като отразява влиянието както на екологичните фактори, така и на антропогенния натиск. Резултатите показват, че варовиковата скална основа и специфичните почвени условия играят ключова роля за формирането на видовото богатство и разнообразие. Въпреки сравнително умерените стойности на разнообразие в някои пробни площи, много тревни съобщества включват редки, ендемични и консервационно значими видове, което подчертава тяхната екологична стойност.

Проучването потвърждава високата хетерогенност и сложност на тревните екосистеми в България и тяхната роля като центрове на биологично разнообразие. Получените резултати подчертават необходимостта от целенасочени мерки за опазване, особено в райони под силен антропогенен натиск, както и значението на комбинираните флористични и количествени анализи за оценка и класификация на местообитанията.

**Aneva I., Zhelev P., Chobanov D. 2025. Floristic and habitat diversity in representative grassland communities in Bulgaria.** Plant Biosystems, 159(2): 205–213, IF: 1,6, Q2.

Natural and semi-natural grassland ecosystems in Bulgaria are increasingly affected by anthropogenic pressures, leading to habitat degradation and fragmentation. Given their high biodiversity value and ecological importance, understanding their floristic composition and habitat diversity is essential for effective conservation and management.

This study evaluates the floristic and habitat diversity of representative grassland communities across Bulgaria, based on 36 sample plots distributed mainly in the eastern and northern regions of the country. A total of 357 plant species and eight habitat types were identified. Species diversity was assessed using Shannon, Simpson, and Berger–Parker indices, revealing substantial variability among habitats. Shannon’s diversity index ranged

from 0.9 to 3.6, with the highest values recorded in sub-Mediterranean and sub-Pannonian steppe grasslands (habitats 62A0 and 6240).

Cluster analysis based on floristic similarity distinguished several main groups corresponding to habitat types, reflecting both environmental gradients and anthropogenic influences. The results indicate that limestone substrates and specific edaphic conditions play a key role in shaping species richness and diversity. Despite relatively moderate diversity values in some sites, many grasslands host rare, endemic, and conservation-significant species, emphasizing their ecological importance.

The study confirms the high heterogeneity and complexity of Bulgarian grassland ecosystems and highlights their role as biodiversity hotspots. The findings underline the necessity of targeted conservation measures, particularly in areas exposed to strong human impact, and demonstrate the usefulness of combined floristic and diversity analyses for habitat assessment and classification.

\*\*\*

#### № 9

#### **Състав на етеричните масла на пет вида от род *Thymus*, разпространени в България**

Настоящото изследване представя задълбочен фитохимичен анализ на състава на етеричните масла при пет вида от род *Thymus* (*T. atticus*, *T. leucotrichus*, *T. striatus*, *T. zugioides* и *T. perinicus*), принадлежащи към секция *Hyphodromi* и разпространени в България. С оглед на високата таксономична и химична сложност на рода, проучването цели да разкрие особеностите на химичната вариабилност и да допринесе за изясняване на хемотаксономичните взаимоотношения между видовете.

Етеричните масла, изолирани от надземните части на растенията, са анализирани чрез GC/MS/FID, като са идентифицирани 120 летливи съединения, представляващи 94.6–97.7% от общия състав. Установените компоненти принадлежат към основни химични групи – монотерпени, сесквитерпени и ароматни съединения, като се наблюдава съществена междувидова вариабилност както в качествено, така и в количествено отношение.

Три от изследваните видове (*T. atticus*, *T. leucotrichus* и *T. striatus*) се характеризират с преобладаване на сесквитерпеноиди, като основни компоненти са  $\beta$ -кариофилен и кариофилен оксид. За разлика от тях, *T. zugioides* и ендемичният *T. perinicus* показват високо съдържание на ароматни съединения, доминирани от тимол, което определя ясно изразени тимолови хемотипове. За първи път е установен съставът на етеричното масло на *T. perinicus*.

Получените резултати разкриват наличието на нови хемотипове при част от видовете, включително сесквитерпенови профили при *T. atticus*, *T. leucotrichus* и *T. striatus*. Многовариантният статистически анализ (РСА и клъстерен анализ) потвърждава обособяването на видовете в две основни групи – богати на сесквитерпеноиди и богати на ароматни съединения.

В обобщение, изследването демонстрира изразен химичен полиморфизъм в рамките на род *Thymus* и предоставя ценни данни с значение за хемотаксономията, изследванията на биоразнообразието и устойчивото използване на ароматни растителни ресурси.

Trendafilova A., Todorova M., Ivanova V., Zhelev P., Aneva I. 2021. **Essential oil composition of five *Thymus* species of Bulgarian origin.** Chemistry and Biodiversity 18(10) IF: 2.29, Q2.

This study presents a detailed phytochemical investigation of the essential oil composition of five *Thymus* species (*T. atticus*, *T. leucotrichus*, *T. striatus*, *T. zygoides*, and *T. perinicus*) belonging to section *Hyphodromi* and naturally distributed in Bulgaria. Given the high taxonomic and chemical complexity of the genus, the research aims to provide new insights into the chemical variability and chemotaxonomic relationships within this group.

Essential oils obtained from aerial plant parts were analyzed using GC/MS/FID, leading to the identification of 120 volatile compounds representing 94.6–97.7% of the total oil composition. The identified constituents were classified into major chemical groups, including monoterpenes, sesquiterpenes, and aromatic compounds, revealing substantial interspecific variation in both qualitative and quantitative profiles.

Three of the studied species (*T. atticus*, *T. leucotrichus*, and *T. striatus*) were characterized by a predominance of sesquiterpenoids, with  $\beta$ -caryophyllene and caryophyllene oxide as principal components. In contrast, *T. zygoides* and the endemic *T. perinicus* exhibited high proportions of aromatic compounds, particularly thymol, indicating distinct thymol-type chemotypes. Notably, the essential oil composition of *T. perinicus* is reported for the first time.

The results reveal the existence of previously undescribed chemotypes for several species, including new sesquiterpene-dominated profiles in *T. atticus*, *T. leucotrichus*, and *T. striatus*. Multivariate statistical analyses (PCA and cluster analysis) further support the differentiation of the studied taxa into two main groups: species rich in sesquiterpenoids and species dominated by aromatic compounds.

Overall, the study highlights the pronounced chemical polymorphism within the genus *Thymus* and provides valuable data for chemotaxonomy, biodiversity research, and the sustainable utilization of aromatic plant resources.

\*\*\*

#### № 10

#### **Генетично разнообразие и състав на летливите съединения от цветовете на естествени популации на *Hyssopus officinalis* L. в България**

Настоящото изследване разглежда генетичното разнообразие и състава на летливите съединения в цветовете на *Hyssopus officinalis* L. при две естествени популации в България, разположени на разстояние 73 km. Целта е да се оцени вътре- и

междупопулационната вариабилност и нейното значение за използването и култивирането на вида.

Генетичното разнообразие е анализирано чрез SRAP маркери при 59 индивида и показва висок полиморфизъм (88.7%). Многовариантните анализи (PCoA и UPGMA) разкриват групиране съобразно популационния произход. Въпреки това, ниските стойности на генетична диференциация (Fst и Gst), малката генетична дистанция и високият генен поток показват, че двете популации са генетично сходни, като основната част от вариацията (91%) се дължи на вътрепопулационни различия.

Анализът на летливите съединения чрез GC-MS идентифицира 32 компонента. За разлика от генетичните резултати, PCA анализът на химичния състав разкрива две ясно разграничени групи (хемотипове), които не съответстват на географския произход. Тези хемотипове се отличават със съществени качествени и количествени различия, включително доминиране или отсъствие на ключови съединения като евкалиптол и изо-пинокамфон.

Получените резултати показват, че значителна химична вариабилност може да съществува в рамките на генетично сходни популации, което подчертава ролята както на генетични, така и на негенетични фактори. Установяването на различни хемотипове има съществено значение за стандартизацията, устойчивото използване и култивирането на *H. officinalis* като лечебно и ароматно растение.

Zagorcheva T., Rusanov K., Rusanova M., Aneva I., Stancheva I., Atanasov I. 2020. **Genetic and flower volatile diversity in two natural populations of *Hyssopus officinalis* L. in Bulgaria.** Biotechnology & Biotechnological Equipment, 34(1): 1265-1272. IF: 1.632, Q3.

This study investigates the genetic and flower volatile diversity of *Hyssopus officinalis* L. in two natural populations in Bulgaria, located 73 km apart. The aim was to evaluate intra- and inter-population variability and to assess its implications for resource management and cultivation.

Genetic diversity was analyzed using SRAP markers on 59 individual plants, revealing a high level of polymorphism (88.7%) . Multivariate analyses (PCoA and UPGMA) showed clear clustering according to population origin. However, population differentiation indices (low Fst and Gst, low Nei's genetic distance, and high gene flow) indicated that the two populations are genetically similar, with most variation (91%) occurring within populations rather than between them .

Flower volatile composition, analyzed by GC-MS, identified 32 compounds, including key constituents defined by international standards. In contrast to the genetic data, principal component analysis of metabolite profiles revealed two distinct clusters that did not correspond to geographic origin. These clusters represent two clearly differentiated chemotypes, characterized by substantial qualitative and quantitative differences, including the dominance or absence of major compounds such as eucalyptol and iso-pinocamphone .

The results demonstrate that significant chemical variability exists within genetically similar populations, highlighting the importance of both genetic and non-genetic factors in shaping metabolite profiles. The presence of distinct chemotypes within natural populations has

important implications for the sustainable use, standardization, and cultivation of *H. officinalis* as a medicinal and aromatic plant.

\*\*\*

#### № 11

### **Разнообразие, генетични ресурси и опазване на видовете от род *Tilia* в България**

Настоящото изследване представя обобщен анализ на разнообразието, генетичните ресурси и състоянието на опазване на видовете от род *Tilia* в България. С оглед на нарастващото значение на липите в условията на променяща се среда, проучването има за цел да оцени съвременното състояние на знанията и да идентифицира основните пропуски, свързани с тяхното устойчиво управление и съхраняване.

Видовото разнообразие е анализирано въз основа на литературни данни и теренни проучвания, подпомогнати от специализирана база данни, базирана на горскостопански планове. В България са разпространени три основни вида – *Tilia cordata*, *T. platyphyllos* и *T. tomentosa*, като съществуват таксономични неясноти, свързани с хибридизация и номенклатурни проблеми.

Анализът на генетичните ресурси показва, че *T. tomentosa* е най-широко разпространеният вид (над 190 000 ha), следван от *T. platyphyllos* и *T. cordata*, които имат значително по-ограничено разпространение. Повечето насаждения са издънкови, а липите обикновено участват като съпътстващ компонент в горските съобщества. Разпространението им е предимно под 1000 m н.в., с ясно изразени екологични предпочитания между видовете.

Въпреки тяхното значение, генетичните изследвания в България са ограничени, особено по отношение на използването на молекулярни маркери и изясняването на популационната структура. Опазването се осъществява основно чрез *in situ* мерки (семепроизводствени насаждения и защитени местообитания), докато *ex situ* подходите са слабо развити.

Идентифицирани са съществени пропуски в знанията, включително недостатъчно изследвана генетична вариабилност, нерешени таксономични въпроси и липса на ясно дефинирани мерки за опазване. Подчертава се необходимостта от интегрирани изследвания, съчетаващи молекулярни, екологични и консервационни подходи за устойчиво управление на генетичните ресурси на род *Tilia*.

Zhelev P., Tsvetanov N., Aneva I., Ivanov D. 2020. **Genetic resources of *Tilia* species in Bulgaria: study, state and conservation.** Forestry ideas, 26(2). SJR. Q4.

This study presents a comprehensive review of the diversity, genetic resources, and conservation status of *Tilia* species in Bulgaria. Given the increasing ecological and economic importance of lime trees under changing environmental conditions, the study aims to evaluate current knowledge and identify critical gaps related to their sustainable management and conservation.

Species diversity is analyzed through literature data and field inventories, supported by a specialized database integrating information from forest management plans. In Bulgaria,

three main species are reliably recognized—*Tilia cordata*, *T. platyphyllos*, and *T. tomentosa*—while taxonomic uncertainties persist due to hybridization and nomenclatural issues.

The assessment of genetic resources reveals that *T. tomentosa* is the most widespread species, occupying over 190,000 ha, followed by *T. platyphyllos* and *T. cordata*, which have significantly more limited distributions. Most populations are of coppice origin, and lime species are typically subdominant within forest stands. Their distribution is mainly below 1000 m a.s.l., with species-specific ecological preferences.

Despite their ecological significance, genetic studies in Bulgaria remain limited, particularly regarding molecular markers and population structure. Conservation efforts are primarily implemented through in situ approaches, including seed production stands and protected habitats, while ex situ measures are insufficiently developed.

The study identifies major knowledge gaps, including insufficient data on genetic diversity, unclear taxonomic relationships, and lack of well-defined conservation units. It emphasizes the need for integrated research combining molecular approaches, ecological data, and conservation strategies to ensure the sustainable use and preservation of *Tilia* genetic resources.

\*\*\*

## № 12

### **Състояние на естествените находища на *Rhodiola rosea* в Рила планина, България**

Настоящото изследване оценява състоянието на популациите и степента на застрашеност на *Rhodiola rosea* L. в шест естествени находища в Рила планина. Като високопланински вид, свързан със специфични и чувствителни местообитания, *R. rosea* е подходящ модел за изследване на въздействието на климатичните и антропогенните фактори.

Теренните проучвания, проведени в периода 2016–2020 г., включват оценка на числеността, плътността и пространственото разпределение на популациите чрез стандартни методи. Установено е, че популациите са с ограничен брой индивиди и значителна вариабилност между отделните находища. Най-голяма численост е отчетена в района на Белмекен (около 130 индивида), докато най-малките популации са регистрирани при Калин и Русалиите.

Популациите в труднодостъпни райони се характеризират с по-добро състояние, докато тези в близост до туристически маршрути са с по-ниска численост, разпокъсана структура и липса на естествено възобновяване. Като основни заплахи са идентифицирани антропогенният натиск (включително незаконно събиране и търговия), загубата на местообитания и климатичните промени.

Резултатите подчертават силната зависимост на вида от специфични високопланински условия, свързани със сигурно водоснабдяване в близост до късно топящи се снежни маси. Въпреки съществуващите мерки за защита, те се оказват недостатъчни за ограничаване на негативните въздействия. Необходимо е прилагането на дългосрочен

мониторинг, засилен контрол върху естествените местообитания и допълнителни консервационни мерки, включително разглеждане на възможността за включване на вида в Приложение II на CITES.

Aneva I., Zhelev P., Sidjimova B., Nikolova M., Savev S. 2021. **Population Status and Natural Localities of *Rhodiola rosea* in Rila Mts., Bulgaria.** Ecologia Balkanica, Special edition (4): 145-151, SJR, Q4.

This study evaluates the population status and conservation condition of *Rhodiola rosea* L. in six natural localities in the Rila Mountains, Bulgaria. As a high-mountain species associated with specific and sensitive habitats, *R. rosea* is particularly suitable for assessing the impacts of environmental change and anthropogenic pressure.

Field surveys were conducted between 2016 and 2020 using standardized transect and plot-based approaches. Population size, density, and spatial distribution were assessed across six localities: Seven Rila Lakes, Skakavitsa Waterfall, Kalin Dam, Rusaliite, Belmeken, and Musala Hut. The results show generally small population sizes, with significant variation among sites. The largest population was recorded at Belmeken (approximately 130 individuals over 1800 m<sup>2</sup>), while the smallest populations were observed at Kalin Dam and Rusaliite .

Populations located in remote and less accessible areas exhibited better conservation status, whereas those near tourist routes showed reduced individual numbers, fragmented distribution, and lack of regeneration. Anthropogenic pressure, including illegal collection and trade, as well as habitat loss and climate-related changes, were identified as major threats to the species .

The study highlights the ecological specificity of *R. rosea*, which depends on stable moisture conditions in alpine habitats near late-melting snowfields. Despite its protected status and occurrence within protected areas, current conservation measures are insufficient to mitigate ongoing threats. The findings emphasize the need for continuous monitoring, stricter control of exploitation, and enhanced conservation strategies, including the potential inclusion of the species in CITES Appendix II.

\*\*\*

### № 13

#### ***Ново естествено находище на *Inula spiraeifolia* (Asteraceae) в Югозападна България***

Настоящото изследване съобщава за ново естествено находище на редкия и застрашен вид *Inula spiraeifolia* L. в Югозападна България, с което се потвърждава присъствието му във флората на страната. Видът е установен в долината на река Струма, на около 6 km северно от Кресна, на надморска височина 210–230 m.

Популацията включва приблизително 30–40 индивида, неравномерно разпределени на малка площ (~0.1 ha), като са установени и отделни допълнителни групи в близост. Видът се среща по каменисти и песъчливи микроместообитания в храстова

растителност с високо флористично разнообразие и ясно изразено участие на субсредиземноморски елементи.

Местообитанието включва както естествени, така и антропогенно повлияни компоненти, което показва способността на вида да колонизира вторични субстрати при подходящи условия. В рамките на проучването са регистрирани 73 вида растения, като доминиращ е средиземноморският флористичен елемент.

Въпреки липсата на непосредствени заплахи, ограниченият размер на популацията и локализираното разпространение налагат прилагането на целенасочени консервационни мерки. Препоръчват се *in situ* дейности, включващи мониторинг и защита на находището, както и *ex situ* подходи – съхранение на семена и създаване на живи колекции.

Откриването на новото находище има съществен принос към познанията за разпространението и състоянието на вида в България и подчертава значението на теренните изследвания за установяване и опазване на редки растителни видове.

Aneva I., Zhelev P., Trendafilova A. 2020. **A new natural locality of *Inula spiraeifolia* (Asteraceae) in Southwest Bulgaria.** *Phytologia Balcanica* 26(1): 87-90.

This study reports a newly discovered natural locality of the rare and endangered species *Inula spiraeifolia* L. in Southwest Bulgaria, providing confirmed evidence of its occurrence in the country. The species was identified in the Struma River Valley, approximately 6 km north of Kresna, at an altitude of 210–230 m a.s.l.

The population consists of approximately 30–40 individuals distributed unevenly across a relatively small area (~0.1 ha), with additional small subpopulations located nearby. The species inhabits stony and sandy microhabitats within a shrub-dominated vegetation, characterized by relatively high floristic diversity and a predominance of sub-Mediterranean elements.

The habitat includes both natural and anthropogenically influenced components, suggesting that the species is capable of colonizing secondary substrates under suitable ecological conditions. The floristic analysis recorded 73 plant species, with a strong Mediterranean influence, reflecting the ecological specificity of the locality.

Although no immediate threats were identified, the restricted population size and limited distribution underline the need for targeted conservation measures. Recommended actions include *in situ* monitoring and protection of the locality, as well as *ex situ* conservation through seed banking and the establishment of living collections.

The discovery of this locality contributes significantly to the knowledge of the distribution and conservation status of *I. spiraeifolia* in Bulgaria and highlights the importance of continued field investigations for rare and insufficiently studied plant species.

\*\*\*

№ 14

*Пчели и лечебни растения: потенциал за приложение на  
ентомовекторинг*

Изследването анализира зависимостта на лечебните растения от насекомни опрашители, с акцент върху пчелите, и оценява потенциала на ентомоекторинга като иновативен подход за растителна защита. Като модел е използвана флората на лечебните растения в България, обхващаща 712 вида, анализирани по отношение на биологията на размножаване и функционалната морфология на цветовете.

Резултатите показват, че преобладаващата част от лечебните растения са покритосеменни, главно многогодишни видове, като над 90% от тях зависят от насекомни опрашители за успешно семенно размножаване. Анализът на функционалната морфология разкрива доминиране на цветовете от тип „чинийка/купа“, както и значително участие на по-специализирани морфологични типове (gullet и flag), тясно свързани с опрашване от пчели.

Въпреки наличието на алтернативни репродуктивни стратегии – като спонтанно самоопрашване, вегетативно размножаване и апомиксис – значителна част от видовете остават силно зависими от опрашители. Експерименталните резултати показват, че редица ключови видове, включително представители на род *Gentiana*, *Haberlea rhodopensis* и *Sideritis scardica*, не проявяват или проявяват ограничена способност за самоопрашване и разчитат на насекоми за успешното им размножаване. Изследването подчертава, че намаляването на опрашителите представлява сериозна заплаха не само за земеделието, но и за устойчивото използване на лечебните растения. В същото време се акцентира върху потенциала на пчелите като биологични вектори (ентомовекторинг) за пренасяне на полезни микроорганизми и прилагане на целенасочен биологичен контрол на болести и вредители.

Получените резултати подчертават както екологичната, така и приложната значимост на опрашителите и обосновават необходимостта от интегриране на опрашителната биология и биологичния контрол в устойчивото управление на лечебните растения.

Kozuharova E., Aneva I., Goulson D. 2020. Book Chapter: **Bees and medicinal plants – prospective for entomovectoring**. In: Hokkanen, H., Gao, Y., and Menzler-Hokkanen, I. (Eds.). Integrative Biological Control. Springer, Series “Progress in Biological Control”, 15: 231-248.

This study explores the dependence of medicinal plants on insect pollinators, with a particular focus on bees, and evaluates the potential of entomovectoring as an innovative strategy for plant protection. Using Bulgarian medicinal flora as a model, the research analyzes 712 species classified under the Medicinal Plants Act, with emphasis on their reproductive biology, pollination syndromes, and functional floral morphology.

The results demonstrate that the vast majority of medicinal plants are angiosperms, predominantly perennial species, and more than 90% rely on insect pollinators for successful seed production. Functional analysis of floral morphology reveals that dish/bowl-type flowers dominate, followed by more specialized morphologies such as gullet and flag types, which are strongly associated with bee pollination.

Despite the presence of alternative reproductive strategies—such as spontaneous self-pollination, vegetative propagation, and apomixis—many medicinal species remain highly dependent on pollinators. Experimental data confirm that key species, including

representatives of *Gentiana*, *Haberlea rhodopensis*, and *Sideritis scardica*, exhibit limited or no capacity for autonomous self-pollination and rely on insects for reproduction.

The study highlights pollinator decline as a critical threat not only to agricultural productivity but also to the sustainability of medicinal plant resources. At the same time, it emphasizes the potential of bees as biological vectors (entomovectoring agents) for delivering beneficial microorganisms, enabling targeted control of pests and diseases in medicinal plant systems. The findings underline the dual ecological and applied significance of pollinators and support the integration of pollination biology and biological control strategies in the sustainable management of medicinal plants.

\*\*\*

### № 15

#### *Malus florentina* (Rosaceae) – нов вид за дендрофлората на България

*Malus florentina* (Rosaceae) е установен за първи път в България. Видът е открит в западната част на страната, в граничната зона между Влахина планина (флористичен район Западни гранични планини) и долината на р. Струма, на надморска височина между 550 и 900 m.

По време на теренни проучвания (2022–2023 г.) бе установена популация от около 55 индивида, разпространени по крайнини на гори, в просеки, изоставени овощни градини и пасища. Наличието на индивиди от различни възрастови групи, включително стари дървета над 20–30 години, свидетелства за естествен произход и устойчиво възпроизводство на популацията, а не за скорошна интродукция. Установено е и активно естествено възобновяване, включително разпространение на млади растения на значителни разстояния, вероятно чрез птици.

Видът се среща в термофилни широколистни гори, доминирани от *Quercus pubescens*, отнасящи се към съюза *Quercetalia pubescentis*. Неговото установяване в България запълва биогеографска празнина между популациите в Западните Балкани и Турция и подкрепя хипотезата за естествено разширяване на ареала в източна посока на Балканския полуостров.

Въпреки установеното естествено разпространение, ограниченият брой индивиди и локализираното разпространение налагат предприемането на спешни мерки за опазване. Необходими са допълнителни изследвания върху числеността, екологичните особености и природозащитния статус на вида в България.

Aneva I., Zhelev P. 2023. *Malus florentina* (Rosaceae) – new species for the Bulgarian dendroflora. Phytologia Balcanica, 29(2): 179 – 184.

This study reports the first occurrence of *Malus florentina* (Rosaceae) in Bulgaria, representing a new addition to the national dendroflora. The species was recorded in the western part of the country, in the border zone between the Western Frontier Mountains (Vlahina Mts.) and the Struma River Valley, at elevations between 550 and 900 m.

Field investigations conducted during 2022–2023 revealed a population of approximately 55 individuals distributed across forest edges, clearings, abandoned orchards, and pastures. Individuals of different age classes were identified, including mature trees over 20–30 years old, indicating a naturally established and reproducing population rather than a recent introduction. Evidence of natural regeneration, including seedlings dispersed over several kilometers, suggests effective ornithochorous dispersal.

The species occurs within thermophilous deciduous forest communities dominated by *Quercus pubescens*, corresponding to the alliance *Quercetalia pubescentis*. Its presence in Bulgaria fills a biogeographical gap between known populations in the Western Balkans and Turkey, supporting the hypothesis of ongoing eastward range expansion across the Balkan Peninsula.

Despite its relatively stable local presence, the limited number of individuals and restricted distribution underline the need for immediate conservation measures. The study highlights the importance of further investigations on the population size, ecological characteristics, and conservation status of *M. florentina* in Bulgaria.

\*\*\*

#### № 16

#### Ресурсна оценка на *Adonis vernalis* в представителни естествени находища в Западна България

*Adonis vernalis* L. е лечебен вид със значима фармакологична стойност, разпространен по открити варовити местообитания със степен характер и участващ в местообитания с европейско природозащитно значение. Проучването оценява ресурсния му потенциал в представителни естествени находища в Западна България с цел създаване на научна основа за бъдещ мониторинг, опазване и устойчиво използване.

Теренните проучвания са проведени в три естествени находища, разположени в Средна гора, Знеполския район и Софийския регион. В централните части на представителни популации са заложили опитни площи, в рамките на които са извършени флористично описание, оценка на проективното покритие, фитогеографски анализ и ресурсна оценка. В трите площадки са установени общо 84 растителни вида, което отразява сравнително богато флористично разнообразие, типично за варовити тревни и храстови съобщества. Във фитогеографско отношение преобладават субсредиземноморските елементи, докато в локалитетите Голото Бърдо и Беледие хан е по-силно изразен и понтийско-средиземноморският компонент.

Популациите на *A. vernalis* са свързани предимно с местообитание 40A0 Субконтинентални перипанонски храсталаци, като видът участва и в местообитание 6210 Полуестествени сухи храстово-тревни съобщества върху варовик. Проективното покритие на *A. vernalis* във всички проучени находища варира между 15 и 20%, а популационното състояние на вида е оценено като стабилно. Ресурсната оценка показва различия между отделните находища, като най-висок добив е отчетен в района на Беледие хан — 25 g/m<sup>2</sup>, при 14–15 g/m<sup>2</sup> в останалите две находища.

Получените резултати предоставят изходни данни за флористичния състав, хабитатната принадлежност и ресурсното състояние на *Adonis vernalis* в Западна България. Те имат значение за изграждането на бъдещи схеми за мониторинг и представляват научна основа за опазването, управлението и устойчивото използване на вида и неговите местообитания.

**Aneva I., Zhelev P., Nikolova M., Savev S.** 2019. Resource assessment of *Adonis vernalis* in representative natural localities in Western Bulgaria. Proceedings of the X International Scientific Agricultural Symposium “Agrosym 2019”, 1356 – 1362.

*Adonis vernalis* L. is a medicinal species of considerable pharmacological value, associated with open calcareous habitats of steppe character and included in habitat types of European conservation importance. The study evaluates its resource potential in representative natural localities in Western Bulgaria, with the aim of providing a basis for future monitoring, conservation, and sustainable use.

Field surveys were conducted in three natural localities situated in the floristic regions of Sredna Gora, Znepole, and the Sofia region. Experimental plots were established in the central parts of representative populations, and the study included floristic inventory, estimation of projective cover, phytogeographic analysis, and resource assessment. A total of 84 plant species were recorded across the three sites, indicating relatively rich floristic composition typical of calcareous grassland and scrub communities. The flora was dominated by sub-Mediterranean elements, while the localities in Golo Bardo and Beledie Khan also showed a more pronounced Pontic-Mediterranean component.

The populations of *A. vernalis* occur mainly in habitat 40A0 Subcontinental peri-Pannonic scrub, while the species is also associated with habitat 6210 Semi-natural dry grasslands and scrubland facies on calcareous substrates. The projective cover of *A. vernalis* ranged between 15 and 20% in all studied localities, and the populations were assessed as stable. Resource evaluation revealed inter-site differences, with the highest estimated yield recorded at Beledie Khan (25 g/m<sup>2</sup>), compared with 14–15 g/m<sup>2</sup> in the other two localities.

These results provide baseline data on the floristic composition, habitat affiliation, and resource status of *Adonis vernalis* in Western Bulgaria. They also contribute to the development of future monitoring schemes and offer a scientific basis for the conservation, management, and sustainable use of the species and its habitats.

---

## Група от показатели Г

*Хабилитационен труд - научни публикации в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация, извън хабилитационния труд*

---

### № 17

#### **Повишаване на ефекта за биоразнообразието в европейското земеделие чрез регионално насочени и адаптивно управлявани природозащитни мерки**

Интензификацията на земеделието продължава да бъде сред основните фактори за намаляване на биоразнообразието в Европа, независимо от включването на различни природозащитни инструменти в рамките на Общата селскостопанска политика. В този контекст особено значение има оценката на реалния принос на елементите на зелената и синята инфраструктура, подпомагани чрез мерките за „озеленяване“, за съхраняването на видовото разнообразие в земеделските ландшафти.

Проучването обхваща 115 пробни площи в шест региона на Испания, Германия и България, представящи обработваеми земи, пасища и смесени земеделски системи. Като индикаторни групи са използвани птици и растения, а като хабитатни показатели — различни елементи на зелената и синята инфраструктура, включително тревни съобщества, угари, дребномащабни ландшафтни елементи, линейни свързващи структури, както и конфигурационни характеристики на земеделския ландшафт, като големина на полетата и разнообразие на културите.

Резултатите показват, че връзките между биоразнообразието и отделните природозащитни елементи са силно променливи в зависимост от региона, типа земеделска система и разглежданата група организми. Въпреки че повечето елементи на зелената и синята инфраструктура проявяват потенциал да подпомагат биоразнообразието, ефектът им е ясно контекстуално обусловен, а в редица случаи и нелинеен. Най-устойчив положителен ефект върху специализираните земеделски видове птици показват тревните съобщества и угарите, докато линейните свързващи елементи и дребномащабните ландшафтни структури имат по-голямо значение за поддържането на общото биоразнообразие. Ограничаването на окрупняването на земеделските полета също се очертава като мярка с благоприятен ефект, особено по отношение на растителното разнообразие и специализираните полски птици. За разлика от това, постоянните култури, покривните култури и диверсификацията на културите показват по-ограничен или непостоянен природозащитен ефект.

Получените резултати показват, че прилагането на единни природозащитни мерки в мащаба на цяла Европа трудно би довело до оптимални резултати. Ефективността на инструментите на Общата селскостопанска политика зависи в значителна степен от тяхното регионално насочване, от ясно формулирани природозащитни цели и от адаптирането им към конкретната ландшафтна структура и видов състав. Проучването

аргументира необходимостта от по-гъвкав и адаптивен подход, при който задължителните мерки се съчетават с регионално ориентирани доброволни действия, придружени от системен мониторинг, оценка и последващо коригиране на управленските решения.

Concepción E., Aneva I., Jay M., Lukanov S., Marsden K., Moreno G., Oppermann R., Pardo A., Piskol S., Rolo V., Schraml A., Díaz M. 2020. Optimizing biodiversity gain of European agriculture through regional targeting and adaptive management of conservation tools. *Biological Conservation*, 241, 108384, 1-11. IF: 5.99. Q1.

Agricultural intensification remains one of the major drivers of biodiversity loss in Europe, despite the incorporation of conservation instruments into the Common Agricultural Policy (CAP). This study evaluates the capacity of Green and Blue Infrastructure (GBI) elements supported by CAP greening measures to enhance biodiversity across a representative range of European agricultural systems.

The analysis was based on 115 study plots distributed across six case study regions in Spain, Germany, and Bulgaria, including arable land, pastures, and mixed farming systems. Biodiversity was assessed using birds and plants as indicator groups, while habitat indicators reflected a broad spectrum of GBI elements, such as grasslands, fallows, small landscape features, connectivity structures, and configurational characteristics including field size and crop diversity.

The results demonstrate considerable variability in the relationships between biodiversity and GBI elements across regions, farming systems, and taxonomic groups. Although many GBI features showed positive potential for biodiversity support, their effects were often context-dependent and, in some cases, non-linear. Grasslands and fallow land were particularly important for specialist farmland birds, while connectivity elements and small-scale landscape structures often enhanced overall biodiversity. By contrast, the effects of permanent crops, cover crops, and crop diversification were more limited or inconsistent. Preventing field enlargement emerged as a generally beneficial measure, especially for plant diversity and specialist farmland birds.

The study shows that uniform, Europe-wide conservation prescriptions are unlikely to achieve optimal ecological outcomes. Instead, the effectiveness of CAP biodiversity instruments depends on regional targeting, clear conservation priorities, and adaptation to local landscape structure and species composition. The findings support a more flexible and adaptive implementation of CAP measures, combining compulsory landscape-scale elements with regionally tailored voluntary actions and accompanied by systematic monitoring and evaluation.

\*\*\*

## № 18

### **Перспективни лечебни растения и фитохимични съединения за лечение на белодробна хипертония**

Белодробната хипертония е прогресиращо и животозастрашаващо заболяване, характеризиращо се със съдово ремоделиране в белодробната циркулация, повишено

белодробно съдово съпротивление, хипертрофия на дясната камера, завършваща със сърдечна недостатъчност. Предвид ограничената дългосрочна ефективност на съвременните медикаментозни терапии, проучването разглежда терапевтичния потенциал на лечебни растения и фитохимични съединения, използвани при лечението на белодробна хипертония.

Анализът е базиран на систематичен преглед на научната литература, публикувана в периода 1994–2019 г., в базите данни PubMed, Scopus и Cochrane. От първоначално идентифицираните 1290 публикации на критериите за включване отговарят 41 изследвания, които разглеждат както растителни екстракти, така и изолирани фитохимични съединения, оценявани предимно в експериментални модели на белодробна хипертония.

Обобщените данни показват, че растителните продукти могат да повлияват благоприятно заболяването чрез множество взаимодопълващи се механизми, участващи в неговото развитие. Основните установени ефекти включват антипролиферативно, антиоксидантно, противовъзпалително, вазодилаторно, антиремоделиращо и проапоптотично действие. Сред лечебните растения с обещаващ ефект се открояват *Allium sativum*, *Rhodiola tangutica*, *Salvia miltiorrhiza*, *Withania somnifera* и *Terminalia arjuna*, а сред фитохимичните съединения — азиатикозид, байкалин, берберин, ресвератрол, кверцетин, пуникалагин и карвакрол, които показват положително въздействие върху хемодинамичните показатели, съдовото ремоделиране, оксидативния стрес и възпалителните процеси в експериментални системи.

Изследването подчертава значителния мултимисшенен фармакологичен потенциал на лечебните растения и фитохимичните съединения при белодробна хипертония и показва, че при подходящо изследване и приложение те биха могли да предложат по-широк терапевтичен ефект в сравнение с конвенционалните средства, които в много случаи имат предимно контролиращо действие. Същевременно наличните данни са все още доминирани от предклинични изследвания, което налага провеждането на допълнителни механистични и клинични проучвания.

Jasemi S., Khazaei H., Aneva I., Farzaei M., Echeverria J. 2020. Medicinal Plants and Phytochemicals for the Treatment of Pulmonary Hypertension: A Review. *Frontiers in Pharmacology – Ethnopharmacology*, 11: 1-21. IF: 5.81. Q1.

Pulmonary hypertension is a progressive and life-threatening disorder characterized by pulmonary vascular remodeling, increased pulmonary vascular resistance, right ventricular hypertrophy, and eventual heart failure. In view of the limited long-term efficacy of current pharmacological therapies, this review examines the therapeutic potential of medicinal plants and phytochemicals used in the treatment of pulmonary hypertension.

The analysis is based on a structured survey of the literature published between 1994 and 2019, using PubMed, Scopus, and Cochrane databases. From an initial total of 1290 records, 41 studies met the selection criteria and were included in the review. These studies covered

both medicinal plant extracts and isolated phytochemicals evaluated mainly in experimental models of pulmonary hypertension.

The compiled evidence indicates that plant-derived products may exert beneficial effects through multiple complementary mechanisms involved in disease progression. The principal modes of action include antiproliferative, antioxidant, anti-inflammatory, vasodilatory, anti-remodeling, and pro-apoptotic effects. A number of medicinal plants, among them *Allium sativum*, *Rhodiola tangutica*, *Salvia miltiorrhiza*, *Withania somnifera*, and *Terminalia arjuna*, as well as phytochemicals such as asiaticoside, baicalin, berberine, resveratrol, quercetin, punicalagin, and carvacrol, showed favorable effects on hemodynamic parameters, vascular remodeling, oxidative stress, and inflammatory pathways in experimental systems.

The review highlights the multi-target pharmacological potential of medicinal plants and phytochemicals in pulmonary hypertension and suggests that, when appropriately investigated and applied, they may offer broader therapeutic effects than conventional treatments that act mainly in a symptomatic or controlling manner. At the same time, the available evidence is still dominated by preclinical studies, underscoring the need for further mechanistic research and well-designed clinical investigations.

\*\*\*

#### № 19

##### **Оценка на автентичността и качеството на различни видове от род *Rhodiola* и търговски продукти от тях, въз основа на ЯМР-спектроскопия и ВЕТХ**

Автентичността и качеството на продуктите, съдържащи *Rhodiola rosea*, все по-често се поставят под въпрос поради възможността за примесване с други видове от род *Rhodiola*, което създава сериозни предизвикателства пред контрола на качеството и безопасността на потребителите. Целта на изследването е да се разработи надеждна аналитична платформа за качествена и количествена оценка на характерните вторични метаболити при три вида — *R. rosea*, *R. kirilowii* и *R. crenulata* — както и при търговски продукти, предлагани като препарати на основата на *R. rosea*.

Приложеният подход съчетава едно- и двуизмерна ЯМР-базирана метаболомика, количествен ВЕТХ-UV анализ и многовариантна статистическа обработка (OPLS-DA) с цел установяване на видово-специфични метаболитни профили и оценка на автентичността на продуктите. Получените резултати показват, че *R. rosea* се характеризира с високо съдържание на розавини, докато *R. crenulata* притежава ясно разграничим метаболитен профил. Особено значение има установяването на кумарина crenulatin единствено при *R. crenulata*, което го определя като подходящ маркер за откриване на фалшифициране в търговски продукти на основата на *R. rosea*.

ЯМР анализът установява наличие на crenulatin в два от изследваните търговски продукта, което показва примесване с *R. crenulata*. Количественият ВЕТХ анализ разкрива съществени разлики между декларираното и реално установеното съдържание на салидрозид и общи розавини. При по-малко от една четвърт от

анализираните продукти декларираните количества на тези характерни съединения са потвърдени, докато при значителна част от останалите са установени съществени отклонения.

Изследването показва, че комбинираната ЯМР–ВЕТХ платформа е ефективен инструмент за фитохимично характеризиране, автентификация и контрол на качеството както на суровини, така и на търговски продукти от *Rhodiola*. Подходът е приложим на различни етапи от производствената верига и предоставя надеждна основа за откриване на фалшифициране и за подобряване на стандартизацията на продуктите, съдържащи *R. rosea*.

Marchev A., Koycheva I., Aneva I., Georgiev M. 2020. Authenticity and quality evaluation of different *Rhodiola* species and commercial products 2 based on NMR-spectroscopy and HPLC. *Phytochemical Analysis*, 31(6): 756 – 769, IF: 3.373, Q1. <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pca.2940>

The authenticity and quality of *Rhodiola rosea* products are increasingly compromised by adulteration with other *Rhodiola* species, creating important challenges for quality control and consumer safety. This study aimed to develop a reliable analytical platform for qualitative and quantitative assessment of characteristic metabolites in three *Rhodiola* species—*R. rosea*, *R. kirilowii*, and *R. crenulata*—as well as in commercial products marketed as *R. rosea*-based preparations.

The proposed approach combined one- and two-dimensional NMR-based metabolomics, HPLC-UV quantification, and multivariate statistical analysis (OPLS-DA) in order to identify species-specific metabolite profiles and evaluate product authenticity. The results demonstrated that *R. rosea* is characterized by high levels of rosavins, whereas *R. crenulata* exhibits a distinct metabolite pattern. Of particular importance was the identification of the coumarin crenulatin exclusively in *R. crenulata*, which makes it a suitable marker for detecting adulteration in commercial *R. rosea* products.

NMR analysis revealed the presence of crenulatin in two of the analysed commercial products, indicating adulteration with *R. crenulata*. HPLC quantification further showed substantial discrepancies between the labelled and experimentally determined contents of salidroside and total rosavins. In fewer than one quarter of the tested products were the declared concentrations of these characteristic compounds confirmed, while many products contained either markedly lower or higher amounts than indicated on the label.

The study demonstrates that the combined NMR–HPLC platform is an effective tool for phytochemical characterization, authentication, and quality control of *Rhodiola* raw materials and commercial products. The approach is applicable across different stages of the production chain and provides a valuable basis for detecting adulteration and improving the standardization of *R. rosea*-based preparations.

\*\*\*

**Метаболомно профилиране и биологични свойства на екстракти от корени на два вида *Asphodelus* — *A. albus* и *A. aestivus***

Биологичният потенциал на видовете от род *Asphodelus* предизвиква нарастващ интерес, но химичният състав и фармакологичните свойства при редица таксони все още са недостатъчно изяснени. Настоящото изследване разглежда антиоксидантната активност, ензимно-инхибиторния потенциал и метаболомния профил на екстракти от корени на два вида — *Asphodelus albus* и *A. aestivus*, получени с различни по полярност разтвори.

Биологичната оценка показва ясно изразени различия както между отделните екстракти, така и между двата вида. Сред изследваните проби дихлорометановите и етилацетатните екстракти от корени на *A. albus* проявяват най-силна способност за неутрализиране на свободни радикали, което съответства на по-високото съдържание на общи фенолни съединения. Наред с това екстрактите и от двата вида показват отчетлива инхибиторна активност спрямо тирозиназа и липаза, което очертава потенциално значение при състояния, свързани с кожна хиперпигментация и затлъстяване. Активността спрямо холинестеразите и ензимите, участващи в разграждането на въглехидрати, е по-умерена и варира в зависимост от вида и използвания разтворител.

UHPLC/Orbitrap MS анализът разкрива богат химичен профил, доминиран от флавоноиди, антрахинони и фенолни киселини. Особено съществен резултат е установяването на алоин А, алоин В и алоезин в изследваните видове *Asphodelus*, което се съобщава за първи път извън род *Aloe*. Многовариантният статистически анализ потвърждава съществените различия между двата вида както по отношение на химичния профил, така и на биологичната активност, като антиоксидантният потенциал и инхибирането на ензима тирозиназа се открояват като най-важни отличителни характеристики.

Изследването предоставя нови данни за фитохимичното разнообразие и биологичния потенциал на корените на *A. albus* и *A. aestivus*. Получените резултати подкрепят значението на тези видове като перспективни източници на природни съединения с антиоксидантно и ензимно-инхибиторно действие и очертават възможности за бъдещо развитие на фармацевтични продукти.

Lazarova I., Zengin G., Ibrahime S., Aneva I., Uysal S., Picot C., Aktumsek A., Bouyahya A., Mahomoodally F. 2020. Metabolomics profiling and biological properties of root extracts from two *Asphodelus* species: *A. albus* and *A. aestivus*. *Food Research International*, 134: 109277. IF: 6.475, Q1

The pharmacological potential of *Asphodelus* species has attracted growing interest, yet the biological properties and metabolite composition of several taxa remain insufficiently characterized. This study investigates the antioxidant capacity, enzyme inhibitory activity, and metabolomic profile of root extracts from two species, *Asphodelus albus* and *A. aestivus*, obtained using solvents of different polarity.

The biological evaluation demonstrated marked differences between extracts and species. Among all tested samples, the dichloromethane and ethyl acetate extracts of *A. albus* roots

showed the strongest radical scavenging and reducing activity, which was consistent with their higher total phenolic content. At the same time, extracts from both species displayed notable inhibitory effects against tyrosinase and lipase, indicating potential relevance for the management of hyperpigmentation and obesity-related disorders. The activity against cholinesterases and carbohydrate-hydrolysing enzymes was more moderate and variable depending on the extraction solvent and species.

UHPLC/Orbitrap MS analysis revealed a chemically rich profile dominated by flavonoids, anthraquinones, and phenolic acids. Of particular significance was the identification of aloin A, aloin B, and aloesin in the investigated *Asphodelus* species, reported here for the first time outside the genus *Aloe*. Multivariate analysis further showed that the two species differ substantially in their biological and chemical patterns, with antioxidant activity and tyrosinase inhibition contributing most strongly to their discrimination.

Overall, the study provides new evidence for the phytochemical diversity and bioactive potential of *A. albus* and *A. aestivus* roots. The findings support their value as promising sources of natural compounds with antioxidant, enzyme inhibitory, and potential phyto-pharmaceutical applications, while also laying the groundwork for future investigations into their pharmacological relevance and possible therapeutic use.

\*\*\*

## № 21

### **Ефекти от приема на *Cynara scolymus* L. върху антропометричните показатели: систематичен обзор и дозово-отговорен мета-анализ на клинични проучвания**

Наличните клинични проучвания представят противоречиви данни относно влиянието на *Cynara scolymus* L. върху антропометричните показатели. С цел изясняване на този въпрос е проведен систематичен обзор и дозово-отговорен мета-анализ, насочен към оценка на ефектите от приема на артишок върху основни антропометрични параметри.

В анализа са включени контролирани клинични проучвания с общо 588 участници, в които е оценено въздействието на артишока върху телесното тегло, индекса на телесна маса и обиколката на талията. Обобщените резултати показват, че приемът на *C. scolymus* води до статистически значимо намаляване на обиколката на талията, докато по отношение на телесното тегло и индекса на телесна маса не се установява общ значим ефект. Дозово-отговорният анализ също не показва значима нелинейна зависимост между дозата и промените в теглото.

Подгруповите анализи показват, че ефектът от приема на артишок може да зависи от клиничните характеристики на изследваните популации. По-специално, при пациенти с артериална хипертония е установено статистически значимо намаляване на телесното тегло, докато при останалите групи подобен ефект не е доказан. Това предполага, че въздействието на *C. scolymus* върху антропометричните показатели е контекстуално обусловено и вероятно по-изразено при определени метаболитни или клинични състояния.

Като цяло изследването показва, че приемът на артишок може да допринася за намаляване на абдоминалното затлъстяване, отразено чрез понижаване на обиколката на талията, но не проявява устойчив общ ефект върху телесното тегло или индекса на телесна маса. Подчертава се необходимостта от по-мощни и добре планирани клинични проучвания с по-дълга продължителност и по-добре стандартизирани режими на приложение, за да се оцени по-точно мястото на *C. scolymus* в контрола на телесното тегло и метаболитното здраве.

Hemati N., Venkatakrisnan K., Yarmohammadi S., Moradi M., Moravejolahkami A., Hadi A., Moradi S., Aneva I., Farzaei M. 2021. The Effects of Supplementation with *Cynara scolymus* L. on Anthropometric Indices: A Systematic Review and Dose-response Meta-analysis of Clinical Trials. *Complementary Therapies in Medicine*, 56: 102612. IF: 2.446, Q1.

Clinical studies evaluating the effects of *Cynara scolymus* L. on anthropometric indices have yielded inconsistent findings. To clarify this issue, a systematic review and dose-response meta-analysis of randomized controlled trials was conducted to assess the impact of artichoke intake on body weight, body mass index, and waist circumference.

The analysis included clinical trials involving a total of 588 participants. The pooled results demonstrated a statistically significant reduction in waist circumference, whereas no overall significant effect was observed for body weight or body mass index. Dose-response analysis likewise did not reveal a significant non-linear association between the administered dose and changes in body weight or BMI.

Subgroup analyses suggested that the effects of artichoke intake may partly depend on the clinical characteristics of the studied populations. In particular, a statistically significant reduction in body weight was observed in hypertensive patients, while such an effect was not confirmed in the remaining groups. These findings indicate that the influence of *C. scolymus* on anthropometric indices may be context-dependent and potentially more pronounced under specific metabolic or clinical conditions.

Overall, *Cynara scolymus* L. intake may contribute to the reduction of abdominal adiposity, as reflected by decreased waist circumference, but does not appear to exert a consistent overall effect on body weight or body mass index. Further large-scale and methodologically robust clinical studies are needed to define more precisely the role of artichoke in weight management and metabolic health.

\*\*\*

## № 22

### Потенциалният терапевтичен ефект на РНК интерференцията и природните продукти при COVID-19: обзор върху коронавирусните инфекции

Появата на SARS-CoV-2 подчерта необходимостта от ефективни терапевтични стратегии, насочени едновременно към вирусната репликация и към взаимодействията между вируса и гостоприемника. Настоящият обзор разглежда потенциала на РНК интерференцията и природните продукти като допълващи се

антивирусни подходи при COVID-19, като същевременно обобщава основни биологични особености на коронавируса, релевантни за терапевтично въздействие. В статията са представени геномната организация, репликационният цикъл, структурните и неструктурните белтъци и механизмите на патогенност при коронавируса, с акцент върху SARS-CoV-2. На тази основа са обсъдени основните терапевтични мишени, включително навлизането в клетката чрез spike белтъка, взаимодействието с ACE2 и TMPRSS2, активността на хеликазата, вирусните протеази 3CLpro и PLpro, функцията на нуклеокапсидния белтък и РНК-зависимата РНК полимераза.

Особено внимание е отделено на природни съединения с установен или предполагаем антивирусен потенциал, включително флавоноиди, полифеноли, антрахинони и други фитохимикали, способни да въздействат върху навлизането на вируса, протеазната активност, геномната репликация или възпалителния отговор на гостоприемника. Сред обсъдените перспективни молекули са емодин, куркумин, нарингин, нарингенин, епигалокатехин галат, кверцетин, ресвератол, които показват възможност за въздействие върху различни молекулни мишени. Паралелно с това РНК интерференцията, базирана на siRNA и miRNA, е представена като потенциален инструмент за потискане експресията на ключови вирусни гени, участващи в репликацията, сглобяването и патогенността на вируса.

Обобщените данни показват, че както РНК интерференцията, така и природните продукти предлагат разнообразна основа по отношение на механизма на действие за разработването на нови антикоронавирусни подходи. Макар значителна част от наличните доказателства да са все още предклинични, тези стратегии очертават обещаваща насока за бъдещо терапевтично развитие при SARS-CoV-2 и сродни коронавирусни инфекции.

Kalhor M.R., Saadatpour F., Arefian E., Soleimani M., Farzaei M.H., Aneva I., Echeverria J. 2021. The potential therapeutic effect of RNA interference and natural products on COVID-19: A review of the coronaviruses infection. *Frontiers in Pharmacology – Ethnopharmacology*. IF: 5.81. Q1.

The emergence of SARS-CoV-2 has highlighted the urgent need for effective therapeutic strategies capable of targeting both viral replication and host–virus interactions. This review examines the potential role of RNA interference and natural products as complementary antiviral approaches in the context of COVID-19, while also summarizing key biological features of coronaviruses relevant to therapeutic intervention.

The review outlines the genomic organization, replication cycle, structural and non-structural proteins, and pathogenic mechanisms of coronaviruses, with particular emphasis on SARS-CoV-2. On this basis, it discusses current therapeutic strategies directed against major viral and host targets, including spike protein-mediated entry, ACE2 and TMPRSS2 interaction, helicase activity, viral proteases such as 3CLpro and PLpro, nucleocapsid protein function, and RNA-dependent RNA polymerase.

Special attention is given to natural compounds with documented or predicted antiviral potential, including flavonoids, polyphenols, anthraquinones, and other phytochemicals capable of interfering with viral entry, protease activity, genome replication, or host

inflammatory responses. Compounds such as emodin, curcumin, naringin, naringenin, epigallocatechin gallate, quercetin, herbacetin, resveratrol, and baicalein are discussed as promising candidates acting on multiple molecular targets. In parallel, RNA interference strategies based on siRNAs and miRNAs are presented as potential tools for suppressing the expression of essential viral genes involved in replication, assembly, and pathogenicity. Taken together, the available evidence suggests that both RNA interference and natural products offer a mechanistically diverse basis for the development of novel anti-coronaviral therapies. Although much of the evidence remains preclinical, these approaches provide a valuable conceptual framework for future therapeutic development against SARS-CoV-2 and related coronavirus infections.

\*\*\*

### № 23

#### **Tribulus terrestris и здравето на женската репродуктивна система: цялостен обзор**

*Tribulus terrestris* L. е добре познато растение в традиционната медицина със своето приложение при репродуктивни нарушения, но въздействието му върху женската репродуктивна система е значително по-слабо изследвано в сравнение с ефектите му при мъжете. Настоящият цялостен обзор анализира наличните данни за влиянието на *T. terrestris* и неговите вторични метаболити върху различни аспекти на женското репродуктивно здраве, включително функцията на яйчниците, маточната активност, синдрома на поликистозните яйчници, симптомите на менопаузата и хормонозависимите неоплазии.

Обобщените данни показват благоприятно влияние върху хистологичните характеристики на яйчниците и матката, подпомагане на фоликулогенезата и овулацията, подобряване на проявите при синдром на поликистозните яйчници, както и инхибиторна активност спрямо клетъчни линии на овариален карцином.

Особено внимание е отделено на фитохимичната основа на тези ефекти, като протодиосцинът, стероиден сапонин, е разглеждан като основен активен компонент на растението. Предполагаемите механизми включват модулиране на гонадотропин-рилизинг хормона и лутеинизиращия хормон, възможно влияние върху метаболизма на дехидроепиандростерона, въздействие върху ендокринно-чувствителни тъкани, както и регулация на пролиферацията и апоптозата в туморни клетки.

Като цяло наличните данни очертават *T. terrestris* като перспективно растение с потенциално приложение в различни направления на женското репродуктивно здраве. Същевременно доказателствената база остава хетерогенна, а в някои области и ограничена, което налага провеждането на по-задълбочени експериментални и клинични изследвания за по-точна оценка на ефективността, механизмите на действие и безопасността.

Ghanbari A., Akhshi N., Nedaei S., Mollica A., Aneva I., Qi Y., Liao P., Darakhshan S., Farzaei M., Xiao J., Echeverría J. 2021. *Tribulus terrestris* and female reproductive system health: A comprehensive review. *Phytomedicine*, Elsevier, 84, IF: 5.34. Q1.

*Tribulus terrestris* L. is widely known for its traditional use in sexual and reproductive health, yet its effects on the female reproductive system have been considerably less explored than those on male reproductive function. This comprehensive review evaluates the available evidence on the influence of *T. terrestris* and its secondary metabolites on female reproductive health, with emphasis on ovarian function, uterine activity, polycystic ovary syndrome, menopausal symptoms, sexual dysfunction, and hormone-dependent cancers.

The collected evidence suggests beneficial effects on ovarian and uterine histology, support of follicular development and ovulation, improvement of symptoms associated with polycystic ovary syndrome, enhancement of sexual desire and satisfaction in postmenopausal women, and inhibitory activity against ovarian and breast cancer cell lines. Particular attention is given to the phytochemical basis of these effects, especially to protodioscin, a steroidal saponin considered the major active constituent of the plant. The proposed mechanisms include modulation of gonadotropin-releasing hormone and luteinizing hormone pathways, possible effects on dehydroepiandrosterone metabolism, stimulation of endocrine-sensitive tissues, and regulation of apoptotic and proliferative processes in tumor cells.

Overall, the available data indicate that *T. terrestris* has promising potential in several aspects of female reproductive health. At the same time, the evidence remains heterogeneous and in some areas limited, highlighting the importance of further rigorous experimental and clinical investigations to clarify efficacy, mechanisms of action, and safety.

\*\*\*

#### № 24

### **Ефекти от комбинираното приложение на екстракт от листа на артишок с метформин и витамин Е при пациенти с неалкохолна чернодробна стеатоза: рандомизирано клинично проучване**

Неалкохолната чернодробна стеатоза е широко разпространено метаболитно чернодробно увреждане, което често изисква комплексен терапевтичен подход. Настоящото рандомизирано клинично проучване изследва дали екстрактът от листа на артишок може да повиши ефективността на конвенционалната терапия при приложение в комбинация с метформин или витамин Е при пациенти с ултразвуково потвърдена диагноза.

В изследването са включени 90 възрастни пациенти, разпределени на случаен принцип в три 12-седмични терапевтични режима: метформин с витамин Е, метформин с екстракт от листа на артишок и витамин Е с екстракт от листа на артишок. Ефективността на лечението е оценена чрез чернодробна ехография, антропометрични показатели и биохимични параметри, включително чернодробни ензими, липиден профил, кръвна глюкоза на гладно и инсулин.

И в трите групи е установено статистически значимо понижениe на серумните нива на аланинаминотрансфераза и аспартатаминотрансфераза. Ехографските резултати показват съществено подобрене в степента на стеатозата, като делът на пациентите без данни за мастно натрупване в черния дроб нараства най-отчетливо в групите, получавали артишок в комбинация с метформин или витамин Е. Индексът на телесна маса намалява значимо във всички групи, а някои от най-благоприятните метаболитни промени се наблюдават при схемите, включващи артишок — повишение на HDL-холестерола в групата с метформин и артишок и по-изразено понижениe на триглицеридите в групата с витамин Е и артишок.

Фитохимичният анализ на използвания екстракт установява наличието на хлорогенова киселина, кафеена киселина (и нейни производни) и лутеолинови гликозиди, което подкрепя наблюдаваните хепатопротективни и метаболитни ефекти. Получените резултати показват, че екстрактът от листа на артишок има потенциал като полезна допълваща терапия към стандартното лечение при пациенти с неалкохолна чернодробна стеатоза.

Majnooni M., Ataee M., Bahrami G., Heydarpour F., Aneva I., Farzaei M., Ahmadi-Juoibari T.. 2021. The effects of co-administration of artichoke leaf extract supplementation with metformin and vitamin E in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A randomized Clinical Trial, *Phytotherapy Research* 35(11): 6324 – 6334, IF: 5.878, Q1.

Nonalcoholic fatty liver disease is a highly prevalent metabolic liver disorder that often requires multifaceted therapeutic management. This randomized clinical trial investigated whether artichoke leaf extract could enhance the effects of conventional treatment when administered in combination with metformin or vitamin E in patients with ultrasonographically confirmed nonalcoholic fatty liver disease.

Ninety adult patients were randomly assigned to one of three 12-week treatment regimens: metformin plus vitamin E, metformin plus artichoke leaf extract, and vitamin E plus artichoke leaf extract. Treatment efficacy was evaluated through liver ultrasonography, anthropometric assessment, and biochemical analysis, including liver enzymes, lipid profile, fasting blood glucose, and insulin levels.

A significant reduction in serum alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase was observed in all treatment groups. Liver ultrasonography also demonstrated significant improvement in hepatic steatosis, with an increased proportion of patients reaching grade 0, particularly in the metformin–artichoke and vitamin E–artichoke groups. Body mass index declined significantly in all groups, while some of the most favorable metabolic changes were associated with the artichoke-containing regimens, including increased HDL-cholesterol in the metformin–artichoke group and greater triglyceride reduction in the vitamin E–artichoke group.

Phytochemical analysis of the artichoke extract identified chlorogenic acid, caffeic acid and its derivatives, caffeoylquinic acid glucoside, and luteolin glycosides among its principal constituents, supporting the hepatoprotective and metabolic effects observed. The findings

indicate that artichoke leaf extract may represent a useful adjunct to conventional therapy in patients with nonalcoholic fatty liver disease.

\*\*\*

## № 25

### За репродуктивния потенциал на *Primula veris* L. (Primulaceae): ембриологични особености, жизнеспособност на прашеца и семената, генетично разнообразие

Настоящото изследване разглежда репродуктивния потенциал на български популации на *P. veris* чрез интегриран анализ на ембриологичните особености, начина на размножаване, жизнеспособността на прашеца и семената, и генетичното разнообразие.

Резултатите показват, че видът е предимно амфимиктичен и диплоиден, с ясно изразена дистилия, която благоприятства кръстосаното опрашване. Прашниците са тетраспорангиатни, стената им се развива по дикотиледонен тип, а микроспорогенезата протича нормално, като в резултат се формират предимно тетради и двуклетъчни зрели прашникови зърна. Семепъпките са анатропни, тениюцелатни и битегмични, а зародишната торбичка се развива по моноспорния *Polygonum*-тип. След двойното оплождане се формират зародиш от *Caryophyllad*-тип и първоначално ядрен ендосперм. Сред по-съществените находки са развитието на два фиброзни слоя в ендотеция на прашниковата стена и образуването на хипостаза в халазалната част на семепъпката.

Биологичните оценки установяват много висока жизнеспособност на прашеца в изследваните популации — над 95%, но изключително ниска жизнеспособност на семената от естествени находища — едва 2–4%. За разлика от това, семената, получени от растения, отглеждани в *ex situ* условия, показват значително по-висока жизнеспособност — от 68% до 76%, което подчертава силното влияние на условията на средата върху узряването на семената и репродуктивния успех.

Генетичният анализ разкрива сравнително високо ниво на разнообразие в изследваните популации, съответстващо на кръстосаното размножаване, характерно за дистилните видове от род *Primula*. В обобщение, изследването предоставя нови съществени данни за репродуктивната биология на *P. veris* и показва, че въпреки ограничената жизнеспособност на семената в естествени условия, видът притежава значителен репродуктивен потенциал и може успешно да бъде култивиран *ex situ* с цел опазване и използване като лечебно растение.

Yankova-Tsvetkova E., Yurukova-Grancharova P., Aneva I., Zhelev P. 2021. On the Reproductive Potential in *Primula veris* L. (Primulaceae): Embryological Features, Pollen and Seed Viability, Genetic Diversity. *Plants* 2021, 10, 1-16, IF: 3.935, Q1.  
<https://www.mdpi.com/2223-7747/10/11/2296>

Това изследване разглежда репродуктивния потенциал на българските популации на *P. veris* чрез интегриран анализ на ембриологичните особености, начина на

размножаване, жизнеспособността на полена и семената, както и на генетичното разнообразие.

Резултатите показват, че видът е предимно амфимиксен и диплоиден, с дистилни цветове, които благоприятстват кръстосаното опрашване. Прашниците са тетраспорангиатни, развитието на стената им следва двуседелния тип, а микроспорогенезата протича нормално, като води главно до образуване на тетради и двуклетъчни зрели поленови зърна. Семепънките са анатропни, тентуинуцелатни и битегмални, а зародишната торбичка се развива по моноспорния Polygonum-тип. След двойното оплождане се формират зародиш от Caryophyllad-тип и първоначално ядрен ендосперм. Сред по-интересните находки са развитието на два фиброзни ендотециевни слоя в стената на прашника и формирането на хипостаза в халазалната област на семепънката.

Биологичните оценки показват много висока жизнеспособност на полена в изследваните популации, надвишаваща 95%, но изключително ниска жизнеспособност на семената в материал, събран от естествени популации — едва 2–4%. За разлика от това, семената, получени от растения, култивирани ex situ, показват значително по-висока жизнеспособност — от 68% до 76%, което показва силно влияние на условията на средата върху узряването на семената и репродуктивния успех.

Генетичните анализи показват сравнително високо ниво на разнообразие в изследваните популации, което съответства на кръстосаноопрашващата се репродуктивна система, типична за дистилните видове от род *Primula*. Като цяло, резултатите предоставят важни нови данни за репродуктивната биология на *P. veris* и показват, че въпреки ограничената жизнеспособност на семената при естествени условия, видът притежава значителен репродуктивен потенциал и може успешно да бъде култивиран ex situ с цел опазване и използване като лечебно растение.

\*\*\*

## № 26

### Оценка на токсичността на авермектините при животни

Авермектините са сред най-широко използваните антипаразитни средства във ветеринарната медицина и имат съществен принос за контрола на нематоди, артроподи и други паразити. Наред с безспорната им терапевтична ефективност, все повече данни показват, че тези съединения могат да предизвикват и клинично значими токсични ефекти при лекуваните животни. Настоящият обзор представя цялостен анализ на основните токсикологични прояви, свързани с приложението на авермектините при животни, с акцент върху механизмите на действие и аспектите на безопасността.

В статията са разгледани основните представители на тази група, включително ивермектин, абабектин, дорамектин, еприномектин и селамектин, както и техният

антипаразитен механизъм на действие чрез взаимодействие с GABA-рецепторите и глутамат-зависимите хлорни канали. Макар именно този механизъм да определя високата им ефективност срещу паразитите, той е в основата и на възможни токсични ефекти при гостоприемника, особено при нарушени физиологични бариери, повишена чувствителност или продължителна експозиция.

Обобщените данни показват, че авермектините могат да предизвикат нефротоксичност, хепатотоксичност, невротоксичност, репродуктивна токсичност и ендокринни нарушения при различни животински видове. Описаните прояви включват структурни и функционални увреждания на бъбреците и черния дроб, неврологични симптоми като тремор, хиперсаливация, слепота и кома, както и неблагоприятни ефекти върху половите органи, качеството на сперматозоидите, хормоналната регулация и експозицията на плода или новороденото чрез плацентарен трансфер и остатъчни количества в млякото. Наред с това са обсъдени и по-широки проблеми, свързани с екотоксичността, персистирането в околната среда, остатъчните количества в млякото и развитието на резистентност при паразитите, вследствие на широкото приложение на тези препарати.

Като цяло наличните данни показват, че наред със значителната си антипаразитна ефективност, авермектините изискват внимателна токсикологична оценка и предпазлив подход при ветеринарната им употреба. По-задълбоченото изясняване на нежеланите им ефекти, динамиката на остатъчните количества и екологичните последици е необходимо условие за повишаване на безопасността им и за разработване на по-устойчиви стратегии за контрол на паразитите.

Salman M., Abbas R., Mehmood K., Hussain R., Shah S., Faheem M., Zaheer T., Abbas A., Morales B., Aneva I., Martínez J. 2022. Assessment of Avermectins-Induced Toxicity in Animals. *Pharmaceuticals*, 15: 1-14, IF: 5.215, Q1.

Avermectins are among the most widely used antiparasitic agents in veterinary medicine and have played a major role in the control of nematodes, arthropods, and other parasites. Despite their broad therapeutic utility, increasing evidence indicates that these compounds may also induce clinically relevant toxic effects in host animals. This review provides a comprehensive overview of the major toxicological manifestations associated with avermectin use in animals, with emphasis on their mechanisms of action and safety concerns. The review examines the principal representatives of this group, including ivermectin, abamectin, doramectin, eprinomectin, and selamectin, and discusses their antiparasitic mode of action through interaction with GABA receptors and glutamate-gated chloride channels. Although these mechanisms make avermectins highly effective against parasites, they may also underlie toxic effects in treated animals, particularly when physiological barriers are impaired, susceptibility is increased, or exposure is prolonged.

The compiled evidence shows that avermectins may induce nephrotoxicity, hepatotoxicity, neurotoxicity, reproductive toxicity, and endocrine disruption in a variety of animal species. Reported manifestations include structural and functional damage to the kidneys and liver, neurological disturbances such as ataxia, tremors, hypersalivation, blindness, and coma, as well as adverse effects on reproductive organs, sperm quality, hormonal regulation, and fetal or neonatal exposure through placental transfer and milk residues. The review also addresses

broader concerns related to ecotoxicity, environmental persistence, residues in milk, and the emergence of parasite resistance following extensive use.

Overall, the available data indicate that, in addition to their considerable antiparasitic efficacy, avermectins require careful toxicological evaluation and prudent use in veterinary practice. A more comprehensive understanding of their adverse effects, residue dynamics, and ecological consequences is essential for improving their safety profile and supporting the development of more sustainable parasite-control strategies.

\*\*\*

#### № 27

### **Ефективен ли е приемът на добавки от нар за повлияване на биомаркерите на оксидативния стрес (MDA, ox-LDL, PON1, GPX, TAC и TBARS): систематичен обзор и мета-анализ на рандомизирани контролирани проучвания**

Нарът (*Punica granatum* L.) е богат източник на полифенолни съединения с добре изразен антиоксидантен потенциал, но клиничните данни относно влиянието му върху биомаркерите на оксидативния стрес остават противоречиви. Настоящият систематичен обзор и мета-анализ на рандомизирани контролирани проучвания има за цел да оцени ефективността на добавките от нар за повлияване на основни показатели на оксидативния стрес.

В анализа са включени рандомизирани клинични проучвания, обхващащи възрастни участници както от здрави популации, така и от групи с различни заболявания. Нарът е прилаган под формата на сок или екстракт в широк диапазон от дози, а продължителността на интервенциите варира от 3 седмици до 12 месеца.

Проследените показатели включват малондиалдехид (MDA), окислен LDL-холестерол (ox-LDL), параоксоназа 1 (PON1), глутатион пероксидаза (GPX), общ антиоксидантен капацитет (TAC) и вещества, реагиращи с тиобарбитуровата киселина (TBARS).

Обобщените резултати показват тенденция към понижение на MDA, ox-LDL и PON1 при прием на добавки от нар, но без статистически значима разлика. За разлика от това, е установено значимо повишение на GPX и TAC, което насочва към подобряване както на ензимната, така и на общата антиоксидантна защита. Установено е и статистически значимо понижение на TBARS, което подкрепя благоприятен ефект върху оксидативното увреждане, свързано с липидната пероксидация.

Като цяло наличните данни показват, че добавките от нар могат да допринасят за подобряване на антиоксидантния статус и за ограничаване на оксидативния стрес. Същевременно доказателствената база остава ограничена поради малкия брой участници, съществената хетерогенност в дизайна на проучванията, различията в дозировката и лекарствената форма, както и малкия брой изследвания за някои от маркерите.

Asgary S., Karimi R., Pour P., Heydarpour F., Mostafaei S., Farzaei M., Moradi S., Aneva I. 2022. Is consumption of pomegranate supplementation effective on oxidative stress

biomarkers including MDA, ox-LDL, POX 1, GPX, TAC, and TBRAS? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Current Problems in Cardiology*. IF: 16.464. Q1.

Pomegranate (*Punica granatum* L.) is a rich source of polyphenolic compounds with well-documented antioxidant potential, yet clinical evidence regarding its effect on oxidative stress biomarkers remains inconsistent. This systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials was conducted to evaluate the efficacy of pomegranate supplementation in modulating major markers of oxidative stress.

Анализът включва рандомизирани клинични изпитвания с участието на възрастни индивиди както от здрави, така и от клинични популации. Нарът е прилаган под формата на сок или екстракт в широк диапазон от дози, като продължителността на интервенцията варира от 3 седмици до 12 месеца. Изследваните показатели включват малондиалдехид (MDA), окислен липопротеин с ниска плътност (ox-LDL), параоксоназа 1 (PON1), глутатион пероксидаза (GPX), общ антиоксидантен капацитет (TAC) и вещества, реагиращи с тиобарбитурова киселина (TBARS).

Обобщените резултати показват, че приемът на нар има тенденция да понижава нивата на MDA, ox-LDL и PON1, но тези ефекти не достигат статистическа значимост. За разлика от това, са установени статистически значими подобрения при GPX и TAC, което показва засилване на ензимната и общата антиоксидантна защита. Установено е също така значимо намаляване на TBARS, което подкрепя благоприятния ефект върху оксидативните увреждания, свързани с липидната пероксидация. Overall, the available evidence suggests that pomegranate supplementation may contribute to the improvement of antioxidant status and attenuation of oxidative stress. However, the current evidence remains limited by small sample sizes, heterogeneity of study design, variability in dosage and formulation, and the relatively low number of trials for several biomarkers.

\*\*\*

## № 28

### **Еволюционни аспекти на продуктивността на хиперицин и нивата на ендогенни фитохормони при видове от род *Hypericum*: данни от in vitro модел**

Способността за натрупване на hypericin варира съществено между отделните видове от род *Hypericum* и вероятно е свързана както с филогенетичното им положение, така и с физиологичния статус на растението. Настоящото изследване разглежда връзката между еволюционната напредналост, продуктивността на хиперицин и ендогенния фитохормонален баланс чрез in vitro модел на четири вида от род *Hypericum*, представящи различни таксономични секции и еволюционни нива.

Създадени са леторастни култури на хиперицин-ненатрупващия *H. calycinum* (секция *Ascyreia*), хиперицин-продуциращите *H. perforatum* и *H. tetrapterum* (секция *Hypericum*), както и на *H. richeri* (секция *Drosocarpium*), определян като еволюционно най-напредналия вид в рамките на настоящото сравнение. Проследени са растежът и развитието им при различни комбинации от бензиладенин и индол-3-маслена киселина, като са анализирани съдържанието на хиперицин, степента на

хидратираност на тъканите и нивата на ендогенни фитохормони, включително абсцизова киселина, салицилова и бензоена киселина, жасмонати, цитокинини и фенилоцетна киселина.

Сред диворастващите растения *H. richeri* показва най-високо натрупване на хиперицин, значително превишаващо това при *H. perforatum* и *H. tetrapterum*. При *in vitro* условия същият вид отново се откроява с най-висока продуктивност, особено в среда, съдържаща 0.2 mg/L BA и 0.1 mg/L IBA, докато *H. tetrapterum* последователно показва най-нисък продуктивен потенциал. Между изследваните видове са установени и ясно разграничими фитохормонални профили. Еволюционно най-старият *H. calycinum* се характеризира с по-високи нива на салицилова киселина и общи жасмонати в част от вариантите, доминиране на запасната форма ABA-glucose ester и най-ниски стойности на цитокининовите рибозиди и O-глюкозиди. За разлика от него еволюционно най-младият *H. richeri* показва най-високо общо съдържание на цитокининови рибозиди. Получените резултати показват тясна взаимовръзка между еволюционното развитие, продуктивността на вторичните метаболити и ендогенната хормонална регулация при род *Hypericum*. Данните подкрепят хипотезата, че способността за натрупване на хиперицин е възникнала в хода на еволюцията на рода като част от адаптивен отговор към промените в средата.

Danova K., Motyka V., Trendafilova A., Dobrev P., Ivanova V., Aneva I. 2022. Evolutionary aspects of hypericin productivity and endogenous phytohormone pools evidenced in *Hypericum* species *in vitro* culture model. *Plants*, 11: 1-23 IF: 4,658, Q1. <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/20/2753>

The capacity to produce hypericin varies markedly among *Hypericum* species and appears to be related both to phylogenetic position and to the physiological status of the plant. This study explores the relationship between evolutionary advancement, hypericin productivity, and endogenous phytohormone balance by using an *in vitro* shoot culture model of four *Hypericum* species representing different taxonomic sections and evolutionary stages.

Shoot cultures were established for the hypericin-non-producing *H. calycinum* (section *Ascyreia*), the hypericin-producing *H. perforatum* and *H. tetrapterum* (section *Hypericum*), and *H. richeri* (section *Drosocarpium*), considered the most evolutionarily advanced species in the present comparison. Their growth and development were assessed under different combinations of benzyladenine and indole-3-butyric acid, and analyses were performed on hypericin content, tissue hydricity, and endogenous phytohormones, including abscisic acid, salicylic and benzoic acids, jasmonates, cytokinins, and phenylacetic acid.

Among wild-growing plants, *H. richeri* showed the highest hypericin accumulation, significantly exceeding that of *H. perforatum* and *H. tetrapterum*. Under *in vitro* conditions, *H. richeri* again exhibited the highest hypericin productivity, especially in medium supplemented with 0.2 mg/L BA and 0.1 mg/L IBA, whereas *H. tetrapterum* consistently displayed the lowest production potential. Distinct phytohormonal profiles were also identified among the studied species. The evolutionarily oldest *H. calycinum* was characterized by elevated levels of salicylic acid and total jasmonates in some treatments, dominance of the storage form ABA-glucose ester, and the lowest levels of cytokinin

ribosides and O-glucosides. In contrast, the evolutionarily youngest *H. richeri* showed the highest total content of cytokinin ribosides.

The results indicate a close interaction between evolutionary development, secondary metabolite productivity, and endogenous hormonal regulation in the genus *Hypericum*. These findings support the hypothesis that the ability to accumulate hypericin may have emerged in the evolutionary history of the genus as part of an adaptive strategy to environmental change.

\*\*\*

## № 29

### Метаболитни профили, генетично разнообразие и размер на генома на български популации на *Alkanna tinctoria*

*Alkanna tinctoria* е лечебен вид, ценен преди всичко с антибактериалните и противовъзпалителните свойства на своите корени, но химичният потенциал на надземните му части и вътрепопулационната изменчивост в България остават недостатъчно проучени. Настоящото изследване представя комплексна оценка на метаболитния състав, общото съдържание на алканин, генетичното разнообразие и размера на генома при български популации на вида с цел открояване на перспективни източници за бъдещо култивиране и опазване.

Чрез GC/MS са анализирани метанолни екстракти от корени и надземни части на 11 естествени популации, събрани от различни флористични райони на България. Идентифицирани са 24 метаболита, включително фенолни, мастни и органични киселини, стероли, полиоли, мастни алкохоли и захари. Корените се характеризират с високо съдържание на захароза, монозахариди, стероли и мастни алкохоли, докато в надземните части са установени по-високи количества фенолни и органични киселини. Особено съществен резултат е установяването на ононитол (4-O-methyl-myo-inositol) като основен компонент в надземните части, с най-високи стойности при популации от долината на р. Струма. Това е първо съобщение за наличие на ононитол в семейство Boraginaceae.

Общото съдържание на алканин в корените, определено спектрофотометрично, показва значителни различия между отделните популации. Най-високи стойности са установени при популацията от района на Кресна, която превишава търговската контролна проба, а сравнително високи количества са отчетени и при популациите от Лебница, Илинденци, Кулата и Остров. Тези популации се отличават и с богато съдържание на други биологично активни съединения, което ги определя като перспективен изходен материал за въвеждане в култура.

Генетичният анализ показва относително ниско разнообразие в изследваните български популации, което съответства на ограниченото разпространение на вида в страната. Флоуцитометричният анализ установява високо сходство в размера на генома, с  $1C \approx 1.326$  pg при изследваните проби от свежи листа и без данни за съществена вариабилност в пloidното ниво между популациите. Като цяло получените резултати разширяват познанията за фитохимичните и генетичните

характеристики на българските популации на *A. tinctoria* и показват, че не само корените, но и надземните части представляват обещаващ източник на биологично активни вещества.

Nikolova M., Aneva I., Zhelev P., Semerdjieva I., Zheljazkov V., Vladimirov V., Stoyanov S., Berkov S., Yankova-Tsvetkova E. 2023. Metabolic Profiles, Genetic Diversity, and Genome Size of Bulgarian Population of *Alkanna tinctoria*. *Plants* 12(1): 1-17, IF: 4,658, Q1. <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/1/111>

*Alkanna tinctoria* is a medicinal species valued primarily for the antimicrobial and anti-inflammatory properties of its roots, yet the chemical potential of its aerial parts and the population-level variation within Bulgaria remain insufficiently explored. This study provides an integrated assessment of metabolite composition, total alkannin content, genetic diversity, and genome size in Bulgarian populations of the species in order to identify promising accessions for future cultivation and conservation.

Methanolic extracts from roots and aerial parts of 11 natural populations collected from different floristic regions of Bulgaria were analyzed by GC/MS. Twenty-four metabolites were identified, including phenolic, fatty, and organic acids, sterols, polyols, fatty alcohols, and sugars. The roots were characterized by high contents of sucrose, monosaccharides, sterols, and fatty alcohols, whereas the aerial parts contained larger amounts of phenolic and organic acids. A major finding of the study was the identification of ononitol (4-O-methylmyo-inositol) as the dominant component in the aerial parts, with the highest levels recorded in populations from the Struma Valley. This represents the first report of ononitol in *A. tinctoria* and in the family Boraginaceae.

The total alkannin content in the roots, determined spectrophotometrically, varied considerably among populations. The highest content was found in the population from Kresna (AT3), exceeding that of the commercial control, while comparably high levels were also recorded in populations from Lebnitsa, Ilindentsi, Kulata, and Ostrov. These populations were additionally distinguished by a rich profile of other biologically active compounds, indicating their potential value as source material for cultivation.

Genetic analyses revealed relatively low diversity within the studied Bulgarian populations, consistent with the species' restricted distribution in the country. Flow-cytometric analysis showed highly consistent genome size values, with  $1C \approx 1.326$  pg in the tested fresh leaf samples and no evidence of substantial variation in ploidy level among populations. Overall, the results expand current knowledge of the phytochemical and genetic characteristics of Bulgarian *A. tinctoria* and demonstrate that not only the roots, but also the aerial parts, represent a promising source of biologically active compounds.

\*\*\*

### № 30

#### Традиционна употреба на европейски видове от род *Gentiana* при лечение на рани: биоактивни свойства и аспекти на опазването

Лечението на рани продължава да бъде сред основните предизвикателства както при остри, така и при хроничните увреждания, което поддържа интереса към лечебните

растения като източник на нови биоактивни вещества. Настоящото проучване разглежда етноботаничните сведения, фитохимичните данни, фармакологичните наблюдения и природозащитните аспекти, свързани с някои европейски видове от род *Gentiana*, използвани традиционно за лечение на рани.

Анализът показва, че наред с добре познатото им приложение като горчиви тоници и средства при храносмилателни нарушения, редица тинтяви са използвани в народната медицина и при рани, както и при други увреждания на кожата и меките тъкани. Сред видовете, най-често свързвани с подобни приложения, са *Gentiana lutea*, *G. punctata*, *G. asclepiadea*, *G. cruciata*, *G. oliverii*, *G. septemfida* и *G. gelida*. Етноботаничните данни от България, Балканите, Кавказ, Иран, Турция и Средиземноморието свидетелстват за използването на препарати от тинтява под формата на лапи, отвари, извлеци или пластири при язви, циреи, изгаряния, инфектирани и трудно зарастващи рани, както и при други възпалителни кожни състояния.

Фитохимичните проучвания открояват няколко съединения с потенциално значение за регенерацията на кожата и зарастването на рани, сред които изогентизин, изоориентин, магниферин, лупеол, пинорезинол, синрингарезинол. Тези метаболити са обсъдени във връзка с механизми като стимулиране на колагенообразуването, активиране на пролиферацията на фибробласти, подпомагане на реепителизацията, модулиране на възпалителните медиатори и ограничаване на оксидативното увреждане. Макар съвременните фармакологични изследвания, насочени пряко към ранозаздравяващото действие на екстракти или индивидуални съединения от *Gentiana*, все още да са ограничени, наличните данни като цяло подкрепят традиционната им употреба.

Наред с това изследването поставя важен акцент върху природозащитния аспект, тъй като много от лечебно използваните видове тинтява намаляват числеността си в природата и в редица европейски страни са с висок природозащитен статус. В този контекст култивирането и микроразмножаването се очертават като ключови подходи за съхраняване на естествените популации и за създаване на възможности за бъдещо разработване на лекарствени продукти на основата на тинтява. Видовете от род *Gentiana* представляват обещаващ, но все още недостатъчно проучен източник на средства с ранозаздравяващ потенциал, чието изследване следва да се развива паралелно с ефективни мерки за опазване.

Pasdaran A., Naychov Zh., Batovska D., Kerr Ph., Favre A., Dimitrov V., Aneva I., Hamedi A., Kozuharova E. 2023. Some European *Gentiana* are used traditionally to cure wounds: bioactive and conservation issues. *Diversity* 15(3), 467, IF: 2,4, Q1.

Wound management remains a major challenge in both acute and chronic clinical conditions, sustaining interest in medicinal plants as sources of new bioactive compounds. This review examines the ethnobotanical evidence, phytochemical background, pharmacological data, and conservation implications related to several European *Gentiana* species traditionally used for wound healing.

The analysis shows that, beyond their well-known use as bitter tonics and remedies for digestive disorders, a number of gentians have also been employed in traditional medicine to treat wounds and other skin and soft tissue lesions. Species most often associated with

such uses include *Gentiana lutea*, *G. punctata*, *G. asclepiadea*, *G. cruciata*, *G. oliverii*, *G. septemfida*, and *G. gelida*. Ethnobotanical data from Bulgaria, the Balkans, the Caucasus, Iran, Turkey, and the Mediterranean region reveal the use of gentian preparations as poultices, decoctions, extracts, or plasters in the treatment of ulcers, boils, burns, infected wounds, hard-to-heal lesions, and other inflammatory skin conditions.

Phytochemical studies identify several candidate compounds with potential relevance for skin regeneration and wound healing, among them isogentisin, isoorientin, mangiferin, lupeol, pinosresinol, syringaresinol, eustomoside, and sweroside. These metabolites are discussed in relation to biological mechanisms such as stimulation of collagen production, promotion of fibroblast proliferation, enhancement of re-epithelialization, modulation of inflammatory mediators, and reduction of oxidative damage. Although only limited modern pharmacological studies have directly tested the wound-healing activity of gentian extracts or isolated compounds, the available evidence generally supports the traditional use of these species.

At the same time, the review highlights a major conservation concern, since many medicinally used gentians are declining in natural populations and in several European countries have elevated IUCN threat categories. In this context, cultivation and micropropagation are identified as essential approaches for preserving wild populations while enabling the future development of gentian-based medicinal products. Overall, the review demonstrates that *Gentiana* species represent a promising but still insufficiently explored source of wound-healing agents whose study should proceed in parallel with effective conservation measures.

\*\*\*

### № 31

#### **Етерични масла и ексудати от *Artemisia santonicum* L. и *Artemisia lerchiana* Web. като източници на съединения с пестицидна активност**

Настоящото изследване разглежда химичния състав и биологичната активност на етеричните масла (ЕО) и повърхностните ексудати (АЕ) от *Artemisia santonicum* L. и *Artemisia lerchiana* Web., с акцент върху потенциала им като природни пестицидни агенти.

Фитохимичният анализ, извършен чрез GC/MS, разкрива съществени различия в състава на етеричните масла между двата вида. В ЕО на *A. lerchiana* доминират кислородсъдържащи монотерпени, основно 1,8-цинеол и камфор, докато при *A. santonicum* се установява преобладаване на  $\beta$ -пинен, транс-пинокарвеол,  $\alpha$ -пинен и  $\alpha$ -терпинеол. Ексудатите съдържат разнообразни първични и вторични метаболити, включително фенолни киселини, флавоноидни агликони, захарни алкохоли и терпеноиди, което подчертава тяхната хемиоекологична роля.

Биологичната активност е оценена чрез три основни теста: инхибиране на семенна кълняемост, инхибиране на ацетилхолинестераза (AChE) и потискане растежа на фитопатогенни гъби. Етеричните масла и ексудатите демонстрират силна фитотоксична активност, като значително инхибират кълняемостта на *Lolium perenne*

при сравнително ниски концентрации. ЕО проявяват съществена АСhЕ-инхибираща активност (особено при *A. santonicum*), което предполага потенциален инсектициден механизъм на действие, докато ексудатите показват значително по-слаба ензимна инхибиция.

По отношение на противогъбичната активност, както ЕО, така и АЕ проявяват ограничен инхибиторен ефект спрямо изследваните фитопатогени (*Fusarium oxysporum*, *Phytophthora cryptogea* и *Botrytis cinerea*), с изключение на ексудата от *A. lerchiana*, който показва по-изразено действие срещу *B. cinerea*.

Получените резултати показват, че изследваните растителни продукти притежават значителен фитотоксичен и умерен ензимно-инхибиращ потенциал, което ги определя като обещаващи кандидати за разработване на биопестициди. Въпреки това, ограничената им противогъбична активност налага необходимост от допълнителни изследвания за оптимизиране на приложението им и изясняване на механизма на действие.

Nikolova M., Lyubenova A., Yankova-Tsvetkova E., Georgiev B., Berkov S., Aneva I., Trendafilova A. 2023. *Artemisia santonicum* L. and *Artemisia lerchiana* Web. Essential Oils and Exudates as Sources of Compounds with Pesticidal Action. *Plants* 12(19), IF: 4,658, Q1.

This study investigates the chemical composition and biological activity of essential oils (EOs) and surface exudates (AEs) obtained from *Artemisia santonicum* L. and *Artemisia lerchiana* Web., with a focus on their potential as natural pesticidal agents.

Phytochemical profiling by GC/MS revealed distinct compositional differences between the essential oils of the two species. The EO of *A. lerchiana* was characterized by a predominance of oxygenated monoterpenes, mainly 1,8-cineole and camphor, whereas *A. santonicum* EO was rich in  $\beta$ -pinene, trans-pinocarveol,  $\alpha$ -pinene, and  $\alpha$ -terpineol. The exudates contained a diverse array of primary and secondary metabolites, including phenolic acids, flavonoid aglycones, sugar alcohols, and terpenoids, highlighting their chemoecological significance.

The biological activities were evaluated through assays on seed germination inhibition, acetylcholinesterase (AChE) inhibition, and suppression of phytopathogenic fungal growth. Both EOs and AEs exhibited pronounced phytotoxic effects, significantly inhibiting the germination of *Lolium perenne* seeds at relatively low concentrations. The essential oils demonstrated notable AChE inhibitory activity, particularly that of *A. santonicum*, suggesting a potential insecticidal mode of action, while the exudates showed comparatively weak enzyme inhibition.

In contrast, the antifungal activity of both fractions was generally low against the tested phytopathogens (*Fusarium oxysporum*, *Phytophthora cryptogea*, and *Botrytis cinerea*), with the exception of *A. lerchiana* exudate, which showed stronger inhibitory effects against *B. cinerea*.

Overall, the results indicate that the studied plant-derived products possess significant phytotoxic and moderate enzyme-inhibitory potential, supporting their prospective

application as biopesticides. However, their limited antifungal efficacy suggests the need for further investigations to optimize their use and clarify their mechanisms of action.

\*\*\*

## № 32

### Мониторинг и контрол на качеството на горските фиданки в Европа

Настоящото изследване представя обобщаващ анализ на практиките, нормативната рамка и критериите за оценка на качеството на горските фиданки в 23 европейски държави. Основната цел е да се оцени състоянието на системите за контрол на качеството, да се идентифицират съществуващите различия и да се предложат насоки за тяхното хармонизиране.

Резултатите показват значителна вариабилност между страните по отношение на използваните показатели и подходи за оценка на качеството. Генетичният произход на репродуктивния материал (Forest Reproductive Material, FRM) е универсално контролиран и нормативно регламентиран във всички държави. Морфологичните показатели (височина, диаметър на кореновата шийка, морфологични дефекти) са широко използвани и често задължителни, докато физиологичните параметри (напр. хранителен статус, устойчивост към стрес) се прилагат ограничено, главно в северните европейски страни.

Установено е, че нормативните изисквания и стандартите за качество варират значително: те са по-строги в южните региони (особено Средиземноморието), докато в северна Европа контролът често се основава на договорни отношения между производители и потребители. Освен това, в много страни липсва систематично прилагане на съвременни научни постижения, като производството на фиданки остава до голяма степен базирано на традиционни практики.

Контролът на качеството чрез проследяване на приживаемостта и растежа след залесяване се прилага неравномерно и по-скоро служи като индикатор за успеха на залесяването, отколкото като директен критерий за качеството на посадъчния материал. Концепцията за „target seedling/plant“ се използва ограничено, като основно се отчита произходът на семената, но рядко се интегрират морфологични и физиологични характеристики, съобразени с конкретните условия на местообитанието.

В заключение, изследването подчертава необходимостта от по-добра хармонизация на стандартите, по-широко внедряване на научни знания в практиката и подобряване на обмена на информация между изследователи, разсадници и крайни потребители, с цел повишаване ефективността на горското възобновяване в условията на климатични промени.

Mataruga M., Cvjetković B., Cuyper B., Aneva I., Zhelev P., Cudlín P., Metslaid M., Kankaanhuhta V., Collet C., Annighöfer P., Mathes T., Marianthi T., Despoina P., Jónsdóttir R., Monteverdi M., Dato G., Mariotti B., Kolevska D., Lazarević J., Fløistad I., Klisz M., Gil W., Paiva V., Fonseca T., Nicolescu VN, Popović V., Devetaković J., Repáč I., Božič G.,

Kraigher H., Andivia E., Diez J., Böhlenius H., Löff M., Bilir N., Villar-Salvador P. 2023. Monitoring and control of forest seedling quality in Europe, *Forest Ecology and Management* 546, IF: 3,7, Q1.

This study provides a comprehensive review of current practices, legislation, and standards for forest seedling quality monitoring and control across 23 European countries. The aim is to assess existing approaches, identify major differences, and propose directions for harmonization.

The results reveal substantial variability among countries in the criteria and methods used to evaluate seedling quality. The genetic origin of forest reproductive material (FRM) is consistently regulated and monitored across all countries. Morphological attributes, such as seedling height, root collar diameter, and visible defects, are widely applied and often mandatory. In contrast, physiological parameters (e.g., nutrient status, stress tolerance) are rarely used in operational practice and are mainly limited to northern European regions.

Legislative frameworks and quality standards differ markedly, being generally stricter in southern Europe, particularly in Mediterranean countries, while in northern regions quality control often relies on agreements between producers and end-users. In many countries, seedling production remains largely based on traditional practices, with limited incorporation of recent scientific advances.

Post-planting performance (survival and growth) is inconsistently monitored and is more frequently used as an indicator of reforestation success rather than as a direct measure of seedling quality. The “target seedling/plant concept” is only marginally implemented, primarily through the consideration of seed origin, while the integration of morphological and physiological traits tailored to specific site conditions is uncommon.

Overall, the study highlights the need for improved harmonization of quality standards, enhanced transfer of scientific knowledge into practice, and stronger collaboration among researchers, nurseries, and practitioners to increase the effectiveness of forest regeneration under changing environmental conditions.

\*\*\*

### № 33

#### **Фитохимикали като средство за лечение на алергична астма: терапевтични ефекти и механизми на действие**

Алергичната астма представлява хронично възпалително заболяване на дихателните пътища, характеризиращо се с имунологично медирана реакция към алергени, повишена продукция на IgE, възпаление, бронхоконстрикция и хиперсекреция на мукус. Основна роля в патогенезата играят провъзпалителни цитокини и дисбалансът между различни Т-клетъчни популации (Th1/Th2/Th17).

Настоящият обзор има за цел да анализира терапевтичния потенциал на фитохимикалите при алергична астма, като се фокусира върху техните антиоксидантни, противовъзпалителни и имуномодулиращи свойства. Изследването е базирано на систематичен преглед на научната литература (Scopus, PubMed,

Cochrane), като са анализирани 102 оригинални статии, публикувани в периода 2006–2022 г.

Резултатите показват, че фитохимикалите оказват значимо влияние върху ключови патогенетични механизми чрез:

- потискане на продукцията на провъзпалителни цитокини (IL-4, IL-5, IL-13, TNF- $\alpha$ );
- инхибиране на сигнални пътища като NF- $\kappa$ B, MAPK и JAK/STAT;
- редуциране на оксидативния стрес чрез модулация на ROS и активиране на антиоксидантни системи (напр. Nrf2/HO-1);
- намаляване на инфилтрацията на възпалителни клетки (еозинофили, неутрофили, макрофаги);
- понижаване на нивата на IgE и ограничаване на хиперреактивността на дихателните пътища.

Освен това, редица фитохимични съединения (алкалоиди, флавоноиди, кумарини и др.) демонстрират способност да регулират баланса между Th1/Th2 отговора и да повлияват ремоделирането на дихателните пътища.

В заключение, фитохимикалите представляват обещаваща допълваща терапия при алергична астма, благодарение на своя мултимодален механизъм на действие. Въпреки това, са необходими допълнителни клинични изследвания за потвърждаване на тяхната ефективност и безопасност при хора.

Jasemi S., Khazaei H., Morovati M., Joshi T., Aneva L., Farzaei M., Echeverría J. 2023. Phytochemicals as treatment for allergic asthma: Therapeutic effects and mechanisms of action. *Phytomedicine* IF: 7,9, Q1. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.155149>

Allergic asthma is a chronic inflammatory airway disease characterized by immune-mediated responses to allergens, increased IgE production, airway inflammation, bronchoconstriction, and excessive mucus secretion. Its pathogenesis involves complex interactions among immune cells, particularly T helper cell subsets (Th1, Th2, and Th17), and pro-inflammatory cytokines.

This review aims to evaluate the therapeutic potential of phytochemicals in allergic asthma, focusing on their antioxidant, anti-inflammatory, and immunomodulatory properties. The study is based on a systematic analysis of literature retrieved from Scopus, PubMed, and Cochrane databases, including 102 original research articles published between 2006 and 2022.

The findings demonstrate that phytochemicals exert beneficial effects through multiple mechanisms, including:

- suppression of pro-inflammatory cytokines (IL-4, IL-5, IL-13, TNF- $\alpha$ );
- inhibition of key signaling pathways such as NF- $\kappa$ B, MAPK, and JAK/STAT;
- reduction of oxidative stress via modulation of reactive oxygen species and activation of antioxidant pathways (e.g., Nrf2/HO-1);
- attenuation of inflammatory cell infiltration (eosinophils, neutrophils, macrophages);
- reduction of IgE levels and airway hyperresponsiveness.

Additionally, various classes of phytochemicals (alkaloids, flavonoids, coumarins, etc.) contribute to restoring the Th1/Th2 balance and mitigating airway remodeling processes. In conclusion, phytochemicals represent promising adjunctive agents for the management of allergic asthma due to their multi-target mechanisms of action. However, further clinical studies are required to validate their efficacy and safety in human populations.

\*\*\*

#### № 34

### **Натурални продукти за лечение на алергичен ринит: акцент върху клетъчните сигнални пътища и фармакологичните мишени**

Алергичният ринит представлява IgE-медирано възпалително заболяване на носната лигавица, което значително влошава качеството на живот на пациентите. Конвенционалните терапевтични подходи, включително антихистамини и кортикостероиди, обикновено осигуряват временно симптоматично облекчение, но често са свързани с нежелани ефекти и не водят до трайно повлияване на заболяването. В този контекст натуралните продукти и растително-произведените биоактивни съединения се разглеждат като перспективна алтернатива или допълваща терапия.

Настоящият обзор има за цел да представи критична и систематизирана оценка на ефектите на натуралните съединения при алергичен ринит, с особен акцент върху клетъчните сигнални пътища и фармакологичните мишени, чрез които те упражняват своето действие. Анализът е проведен въз основа на систематично търсене в базите данни ScienceDirect, PubMed, Scopus и Web of Science, като след прилагане на предварително зададени критерии за включване са селектирани 46 оригинални изследвания.

Обобщените данни показват, че различни класове фитохимикали, включително флавоноиди, алкалоиди, терпеноиди и други природни съединения, проявяват изразени противовъзпалителни, антиоксидантни и антихистаминови свойства. Тези ефекти се реализират чрез потискане на ключови медиатори на алергичното възпаление, като IgE, хистамин, IL-4, IL-5, IL-13 и други цитокини, както и чрез редукция на оксидативния стрес, апоптозата и клетъчната инфилтрация в носната лигавица. Особено значение имат механизмите, свързани с инхибирането на сигналните пътища MAPK/NF-κB, TLR4/MyD88/NF-κB, STAT6/SOCS1 и GATA3/T-bet.

В заключение, натуралните продукти демонстрират значителен терапевтичен потенциал при алергичен ринит благодарение на мултимодалното си действие върху възпалителните и имунологичните механизми на заболяването. Въпреки обещаващите експериментални данни, са необходими допълнителни висококачествени клинични проучвания за потвърждаване на тяхната ефикасност, безопасност и място в съвременната терапия на алергичния ринит.

Moradi Sh., Khazaei H., Tarlan M., Jasemi S., Joshi T., Aneva I., Farzaei M., Echeverría J. 2024. Natural products for the treatment of allergic rhinitis: focus on cellular signaling

pathways and pharmacological targets. *Frontiers in Pharmacology*, 15: 1447097; doi: 10.3389/fphar.2024.1447097, IF: 4,4, Q1.

Allergic rhinitis is an IgE-mediated inflammatory disorder of the nasal mucosa that markedly impairs patients' quality of life. Conventional therapeutic approaches, including antihistamines and corticosteroids, generally provide only temporary symptomatic relief and are often associated with adverse effects, without ensuring long-term disease control. In this context, natural products and plant-derived bioactive compounds have emerged as promising alternative or adjunctive therapeutic options.

The present review aims to provide a critical and systematic evaluation of the effects of natural compounds in allergic rhinitis, with particular emphasis on the cellular signaling pathways and pharmacological targets involved in their mechanisms of action. The analysis was based on a systematic search of ScienceDirect, PubMed, Scopus, and Web of Science databases, and after applying predefined eligibility criteria, 46 original studies were included.

The reviewed evidence indicates that several classes of phytochemicals, including flavonoids, alkaloids, terpenoids, and other natural compounds, exhibit pronounced anti-inflammatory, antioxidant, and antihistaminic activities. These effects are mediated through suppression of key allergic inflammatory mediators such as IgE, histamine, IL-4, IL-5, IL-13, and related cytokines, as well as through reduction of oxidative stress, apoptosis, and inflammatory cell infiltration in the nasal mucosa. Of particular relevance are the mechanisms involving inhibition of the MAPK/NF- $\kappa$ B, TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B, STAT6/SOCS1, and GATA3/T-bet signaling pathways.

In conclusion, natural products demonstrate considerable therapeutic potential in allergic rhinitis due to their multimodal effects on inflammatory and immunological pathways involved in disease pathogenesis. Nevertheless, further high-quality clinical studies are required to confirm their efficacy, safety, and potential role in contemporary allergic rhinitis management.

\*\*\*

### № 35

#### **Биотест за инхибиране на кълняемостта чрез екстракти и етерични масла от растителни видове**

Нарастващата употреба на синтетични хербициди води до сериозни екологични и здравни проблеми, което налага търсенето на природни алтернативи с по-висока биосъвместимост и по-ниска токсичност. В този контекст растенията представляват ценен източник на биоактивни съединения с потенциална хербицидна активност, като първоначалната оценка на този потенциал често се извършва чрез тестове за инхибиране на семенната кълняемост.

Настоящото изследване има за цел да оцени инхибиторната активност на метанолови екстракти, ацетонови ексудати и етерични масла от 13 растителни вида върху кълняемостта на три моделни плевелни вида – *Lolium perenne*, *Trifolium repens* и

*Trifolium pratense*. Растителният материал е обработен чрез стандартни екстракционни методи, а етеричните масла са получени чрез хидродестилация. Биологичната активност е оценена чрез лабораторен биотест при контролирани условия.

Резултатите показват, че етеричните масла проявяват най-силна инхибиторна активност в сравнение с останалите изследвани фракции. Най-изразен ефект е установен при етеричните масла от *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* и *Thymus moesiacus*, които напълно потискат кълняемостта на всички изследвани видове. Съществена, но видово-специфична активност проявяват също етеричните масла от *Thymus longidentatus* и *Micromeria dalmatica*, както и метаноловият екстракт от *Narcissus pseudonarcissus*.

Химичният състав на най-активните проби е анализиран чрез GC/MS, като са идентифицирани основни компоненти като карвакрол, изомери на цитрал,  $\alpha$ -терпинил ацетат, пиперитон оксид и  $\beta$ -пинен. В метаноловите екстракти са установени фенолни и органични киселини, алкалоиди и въглехидрати.

В заключение, получените резултати показват, че изследваните растителни видове синтезират съединения със значителна фитотоксична активност и представляват обещаващи източници за разработване на био-хербициди.

Yankova-Tsvetkova E., Nikolova M., Aneva I., Stefanova T., Berkov S. 2020. Germination inhibition bioassay of extracts and essential oils from plant species. Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences, 73(9) 1254 – 1259. IF: 0.378. Q2. [http://www.proceedings.bas.bg/DOI/doi2020\\_9\\_09.html](http://www.proceedings.bas.bg/DOI/doi2020_9_09.html)

The extensive use of synthetic herbicides has led to significant environmental pollution and health concerns, prompting the search for natural alternatives with improved biodegradability and lower toxicity. In this context, plants represent a valuable source of bioactive compounds with potential herbicidal properties, and seed germination inhibition assays are commonly used as an initial screening approach.

The present study aimed to evaluate the inhibitory effects of methanolic extracts, acetone exudates, and essential oils obtained from 13 plant species on the germination of three model weed species: *Lolium perenne*, *Trifolium repens*, and *Trifolium pratense*. Plant materials were processed using standard extraction techniques, while essential oils were obtained by hydrodistillation. The biological activity was assessed through laboratory germination bioassays under controlled conditions.

The results demonstrated that essential oils exhibited the strongest inhibitory effects compared to the other tested fractions. The essential oils of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* and *Thymus moesiacus* showed the highest activity, completely inhibiting seed germination of all tested species. Significant but species-specific inhibitory effects were also observed for essential oils of *Thymus longidentatus* and *Micromeria dalmatica*, as well as for the methanolic extract of *Narcissus pseudonarcissus*.

The chemical composition of the most active samples was analyzed by GC/MS, revealing major constituents such as carvacrol, citral isomers,  $\alpha$ -terpinyl acetate, piperitone oxide, and  $\beta$ -pinene. Methanolic extracts were found to contain phenolic and organic acids, alkaloids, and carbohydrates.

In conclusion, the studied plant species produce compounds with significant phytotoxic activity and represent promising candidates for the development of bioherbicides.

\*\*\*

### № 36

#### **Кафеоилхинови киселини, цитотоксична, антиоксидантна, ацетилхолинестеразна и тирозиназна инхибиторна активност на шест вида от род *Inula*, разпространени в България**

Настоящото изследване има за цел да характеризира фитохимичния състав и биологичната активност на метанолови екстракти от шест вида *Inula*, разпространени в България (*Inula oculus-christi*, *I. bifrons*, *I. aschersoniana*, *I. ensifolia*, *I. conyza* и *I. germanica*). Основен фокус е поставен върху идентифицирането и количественото определяне на кафеоилхинови киселини, както и върху оценката на антиоксидантната, ензимно-инхибиторната и цитотоксичната активност на екстрактите.

Чрез HPLC анализ са идентифицирани хлорогенова киселина (5-CQA) и четири изомера на дикафеоилхиновите киселини (1,5-, 3,5-, 4,5- и 3,4-DCQA), като са установени значителни количествени различия между изследваните видове. Най-високо съдържание на общи фенолни съединения и най-силна антиоксидантна активност (DPPH) е наблюдавана при *I. ensifolia*, докато екстрактът от *I. bifrons* проявява най-висока активност в ABTS теста и най-силен тирозиназен инхибиторен ефект.

Изследваните екстракти показват слаба инхибиторна активност спрямо ацетилхолинестеразата и ниска цитотоксичност както към туморни (A549), така и към нетуморни (MDCK II) клетъчни линии в широк концентрационен диапазон. Корелационният анализ разкрива силна положителна зависимост между общото съдържание на фенолни съединения и антиоксидантната активност, както и умерена до силна връзка с ензимно-инхибиторните ефекти.

В заключение, изследваните видове от род *Inula* представляват ценен източник на фенолни съединения с антиоксидантен потенциал и умерена биологична активност, което подчертава тяхното значение като потенциални природни агенти с фармакологично приложение.

Trendafilova A., Ivanova V., Rangelov M., Todorova M., Ozek G., Yur S., Ozek T., Aneva L., Veleva R., Moskova-Doumanova V., Doumanov Y., Topouzova-Hristova T. 2020. Caffeoylquinic Acids, Cytotoxic, Antioxidant, Acetylcholinesterase and Tyrosinase Enzyme Inhibitory Activities of Six *Inula* Species from Bulgaria, *Chemistry & Biodiversity*, 17, IF: 2.408, Q2. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32187453/>

This study aimed to investigate the phytochemical profile and biological activities of methanolic extracts obtained from six *Inula* species growing in Bulgaria (*Inula oculus-christi*, *I. bifrons*, *I. aschersoniana*, *I. ensifolia*, *I. conyza*, and *I. germanica*). Particular emphasis was placed on the identification and quantification of caffeoylquinic acids, as well as on the evaluation of antioxidant, enzyme inhibitory, and cytotoxic activities.

HPLC analysis revealed the presence of chlorogenic acid (5-CQA) and four dicaffeoylquinic acid isomers (1,5-, 3,5-, 4,5-, and 3,4-DCQA), with considerable quantitative variation among species. The extract of *I. ensifolia* exhibited the highest total phenolic content and the strongest DPPH radical scavenging activity, whereas *I. bifrons* demonstrated the highest activity in the ABTS assay and the most potent tyrosinase inhibitory effect.

All studied extracts showed weak acetylcholinesterase inhibitory activity and low cytotoxicity toward both cancer (A549) and non-cancer (MDCK II) cell lines over a wide concentration range. Correlation analysis indicated a strong positive relationship between total phenolic content and antioxidant activity, as well as moderate to strong correlations with enzyme inhibitory effects.

In conclusion, the investigated *Inula* species represent a valuable source of phenolic compounds with notable antioxidant potential and moderate biological activity, highlighting their relevance as promising natural agents for potential pharmacological applications.

\*\*\*

### № 37

#### Хербициден потенциал на етерични масла от избрани видове от семейства Lamiaceae и Asteraceae

Настоящото изследване разглежда хербицидния потенциал на етерични масла, извлечени от шест растителни вида от семействата Lamiaceae и Asteraceae (*Monarda fistulosa*, *Satureja pilosa*, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Micromeria dalmatica*, *Thymus longedentatus* и *Artemisia campestris*), чрез оценка на тяхното влияние върху кълняемостта на семена на моделни плевелни видове (*Lolium perenne* и *Trifolium pratense*).

Биологичната активност е изследвана чрез *in vitro* тестове с водни разтвори на етеричните масла в концентрационен диапазон 0.5–3.0  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Получените резултати показват значителна инхибиторна активност при всички изследвани масла, като стойностите на  $\text{IC}_{50}$  варират между 0.52–1.6  $\mu\text{L}/\text{mL}$  за *L. perenne* и 0.97–3  $\mu\text{L}/\text{mL}$  за *T. pratense*, което свидетелства за по-висока чувствителност на първия вид.

Най-силно изразен инхибиторен ефект проявяват етеричните масла, богати на карвакрол, особено тези от *O. vulgare* subsp. *hirtum*, *M. fistulosa* и *S. pilosa*. Химичният анализ чрез GC/MS показва, че освен карвакрол, съединения като тимол,  $\beta$ -пинен, пиперитон оксид и изомерите на цитрал (гераниал и нерал) също допринасят за фитотоксичната активност.

Допълнително е проведен *in vivo* експеримент при полеви условия, при който етерично масло от риган е приложено чрез включване в суперабсорбент (Terawet), осигуряващ постепенно освобождаване на активните вещества. Резултатите показват дозозависимо намаляване на биомасата на надземните части на растенията, като при най-високата концентрация се отчита до 77% редукция спрямо контролните варианти. В заключение, изследваните етерични масла демонстрират значителен потенциал като природни хербициди, а използването на носители като суперабсорбенти представлява

ефективен подход за повишаване на тяхната стабилност и приложимост при полеви условия.

Nikolova M., Yankova-Tsvetkova E., Traykova B., Stefanova T., Dzhurmanski A., Aneva I., Berkov. S. 2021. Herbicide potential of selected essential oils from plants of Lamiaceae and Asteraceae families. *Acta Agrobotanica* 74, 2021, IF: 1.219 Q2.

This study investigates the herbicidal potential of essential oils obtained from six plant species belonging to the Lamiaceae and Asteraceae families (*Monarda fistulosa*, *Satureja pilosa*, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Micromeria dalmatica*, *Thymus longedentatus*, and *Artemisia campestris*), by evaluating their inhibitory effects on seed germination of model weed species (*Lolium perenne* and *Trifolium pratense*).

The biological activity was assessed through in vitro germination assays using aqueous solutions of essential oils at concentrations ranging from 0.5 to 3.0  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . The results demonstrated significant inhibitory effects for all tested oils, with  $\text{IC}_{50}$  values ranging from 0.52 to 1.6  $\mu\text{L}/\text{mL}$  for *L. perenne* and from 0.97 to 3  $\mu\text{L}/\text{mL}$  for *T. pratense*, indicating higher sensitivity of the former species.

The strongest inhibitory activity was observed for carvacrol-rich essential oils, particularly those derived from *O. vulgare* subsp. *hirtum*, *M. fistulosa*, and *S. pilosa*. GC/MS analysis revealed that, in addition to carvacrol, compounds such as thymol,  $\beta$ -pinene, piperitone oxide, and citral isomers (geranial and neral) contribute to the phytotoxic effects.

An in vivo field experiment was also conducted using oregano essential oil incorporated into a superabsorbent (Terawet), enabling gradual release of active compounds. The results showed a dose-dependent reduction in the aboveground biomass of target plants, reaching up to 77% inhibition at the highest concentration compared to the control.

In conclusion, the studied essential oils exhibit strong potential as natural herbicides, and the use of carriers such as superabsorbents represents an effective strategy for enhancing their stability and applicability under field conditions.

\*\*\*

### № 38

#### **Видовете от род *Gentiana* – природни средства с потенциал за бъдещ контрол на висцералната болка: етнофармакологичен обзор с *in silico* подход**

Обзорът обобщава етнофармакологичните приложения на представители от род *Gentiana* в различни традиционни медицински системи и разглежда техния потенциал за повлияване на висцералната болка чрез съвременни *in silico* подходи. В анализа са включени данни от персийската, китайската и античната гръцка медицина, както и съвременни фитохимични и фармакологични изследвания, обхващащи девет европейски вида.

Литературните източници показват, че тинтявите традиционно се използват като аналгетични, диуретични и противовъзпалителни средства, особено при болки с висцерален произход, включително при бъбречни и гастроинтестинални нарушения. Тези ефекти се свързват с богатия химичен състав на растенията, включващ иридоиди,

секоиридоиди, флавоноиди, ксантони, алкалоиди и терпеноиди, проявяващи разнообразна биологична активност.

Проведеният *in silico* анализ оценява взаимодействието на идентифицирани съединения с ключови рецептори, участващи в трансдукцията на болката – пуринергичния рецептор P2X3 и ванилоидния рецептор TrpV1. Получените резултати показват, че флавоноидни гликозиди, производни на изоориентин и изовитексин, демонстрират най-висок афинитет към тези рецептори и вероятно допринасят за аналгетичния ефект.

Наблюдава се добра съпоставимост между традиционните приложения на тинтявите при вътрешни болки и съвременните молекулярни данни. Род *Gentiana* се очертава като перспективен източник на биоактивни съединения с потенциал за разработване на нови средства за контрол на висцералната болка, което налага провеждането на допълнителни експериментални и клинични изследвания.

Pasdaran A., Butovska D., Kerr Ph., Naychov Zh., Aneva I., Kozuharova E. 2022. Gentians, natural remedies for future of visceral pain control; an ethnopharmacological review with an *in silico* approach. *Biologia Futura* 73(2): 219 – 227, IF: 1.069, Q2.  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s42977-022-00114-7>

This review summarizes the ethnopharmacological applications of *Gentiana* species across different traditional medical systems and explores their potential in the modulation of visceral pain using modern *in silico* approaches. The analysis integrates data from Persian, Chinese, and ancient Greek medicine, as well as contemporary phytochemical and pharmacological studies, covering nine European species.

Available evidence indicates that gentians have been traditionally used as analgesic, diuretic, and anti-inflammatory agents, particularly in the treatment of visceral pain associated with renal and gastrointestinal disorders. These effects are linked to their rich phytochemical composition, including iridoids, secoiridoids, flavonoids, xanthones, alkaloids, and terpenoids, which exhibit diverse biological activities.

The *in silico* analysis evaluates the interaction of identified compounds with key receptors involved in pain signaling, namely the purinergic P2X3 receptor and the vanilloid receptor TrpV1. The results suggest that flavonoid glycosides, particularly isoorientin and isovitexin derivatives, display the highest binding affinity and may contribute to the observed analgesic effects.

A strong correlation is observed between traditional uses of gentians for internal pain relief and modern molecular findings. The genus *Gentiana* emerges as a promising source of bioactive compounds with potential applications in the development of novel therapeutics for visceral pain management, warranting further experimental and clinical validation.

\*\*\*

№ 39

**Рискове от отравяне с лечебни растения: обобщаващ обзор**

Обзорът систематизира наличните данни относно токсичността на лечебните растения и свързаните с тях случаи на отравяне при човека, с акцент върху клиничните прояви, механизмите на действие и основните токсични съединения. Анализирани са публикувани случаи на интоксикации, като растенията са класифицирани според доминиращите токсични ефекти върху различни органи и системи.

Данните показват, че въпреки широкото разпространение и традиционната употреба на фитотерапевтични средства, редица лечебни растения могат да предизвикат сериозни токсични реакции, включително хепатотоксичност, нефротоксичност, гастроинтестинални, респираторни и кардиотоксични ефекти. Черният дроб и бъбреците са сред най-често засегнатите органи, поради ключовата им роля в метаболизма и елиминирането на ксенобиотици.

Отравянията могат да възникнат в резултат на неправилна идентификация на растенията, неконтролирана употреба, предозиране, взаимодействия с лекарствени средства или наличие на токсични замърсители. Особено рискови са случаите на самоназначена терапия и използване на растения с неясен състав и произход.

Обзорът подчертава, че широко разпространеното схващане за безопасност на „натуралните“ продукти е подвеждащо и може да доведе до сериозни здравословни последици. Необходимостта от по-строга регулация, стандартизация и информираност относно безопасната употреба на лечебни растения е от съществено значение за предотвратяване на токсични инциденти.

Farzaei M., Bayrami Z., Farzaei F., Aneva I., Das S., Patra J., Das G., Abdollahi M. 2020. Poisoning by medicinal plant: a comprehensive review. Archives of Iranian Medicine, 23(2): 117 – 127, IF: 1.354, Q3.

This review compiles and systematizes current knowledge on the toxicity of medicinal plants and associated cases of human poisoning, with emphasis on clinical manifestations, mechanisms of action, and the major toxic constituents involved. Reported intoxication cases were analyzed and classified according to the predominant toxic effects on different organs and physiological systems.

The available evidence indicates that, despite their widespread traditional use, many medicinal plants may induce severe toxic effects, including hepatotoxicity, nephrotoxicity, gastrointestinal, respiratory, and cardiotoxic complications. The liver and kidneys are among the most frequently affected organs due to their central role in xenobiotic metabolism and elimination.

Poisoning may result from misidentification of plant species, uncontrolled consumption, overdose, herb–drug interactions, or contamination with toxic substances. Self-medication practices and the use of poorly characterized herbal products represent significant risk factors.

The review highlights that the common perception of natural products as inherently safe is misleading and may lead to serious health risks. Therefore, stricter regulation, standardization, and increased awareness regarding the safe use of medicinal plants are essential to minimize toxic incidents.

\*\*\*

**Летливи съединения на четири вида от род *Inula*, разпространени в България**

Настоящото изследване характеризира летливите съединения на четири вида от род *Inula* (*Inula germanica*, *I. bifrons*, *I. ensifolia* и *I. salicina*), разпространени в България, чрез газова хроматография, съчетана с маспектрометрия (GC-FID/MS). Идентифицирани са общо 141 съединения, като е установено значително разнообразие в химичния състав и ясно разграничени химични профили между изследваните таксони.

Резултатите показват, че *Inula germanica* се характеризира с доминиране на кислородсъдържащи монотерпени, докато при *I. bifrons* преобладават сесквитерпеноиди. За *I. ensifolia* и *I. salicina* е установено високо съдържание на мастни киселини, което ги обособява в отделна група. Основни индивидуални компоненти включват *cis-carvyl acetate*, 1,8-cineole,  $\delta$ -cadinene и различни мастни киселини.

Чрез многовариантен статистически анализ (*principal component analysis* и *cluster analysis*) е демонстрирана значителна химична вариабилност между видовете, като частично се потвърждават, но и в определени случаи се разминават с традиционните таксономични взаимоотношения. Установено е, че *I. salicina* и *I. ensifolia* са най-близки по химичен профил, докато *I. germanica* се отличава съществено.

Получените резултати разширяват познанията за фитохимичното разнообразие в рода *Inula* и подчертават наличието на значителна вътревидова и междуспецифична вариабилност, вероятно обусловена от екологични и генетични фактори

Trendafilova A., Todorova M., Ozek T., Ozek G., Aneva I. 2020. Volatile constituents of four *Inula* species of Bulgarian origin. *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 90, 104035, IF: 1.381, Q3. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197820300442>

This study characterizes the volatile constituents of four *Inula* species (*Inula germanica*, *I. bifrons*, *I. ensifolia*, and *I. salicina*) of Bulgarian origin using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-FID/MS). A total of 141 compounds were identified, revealing substantial chemical diversity and distinct volatile profiles among the investigated taxa.

The results indicate that *Inula germanica* is dominated by oxygenated monoterpenes, whereas sesquiterpenoids prevail in *I. bifrons*. In contrast, *I. ensifolia* and *I. salicina* are characterized by relatively high levels of fatty acids, forming a separate compositional group. Major individual constituents include *cis-carvyl acetate*, 1,8-cineole,  $\delta$ -cadinene, and various fatty acids.

Multivariate statistical analyses (*principal component analysis* and *cluster analysis*) revealed pronounced chemical variability among the species, partially supporting but also challenging traditional taxonomic relationships. *Inula salicina* and *I. ensifolia* exhibited the closest similarity, whereas *I. germanica* showed a more distinct chemical profile.

These findings contribute to a deeper understanding of phytochemical diversity within the genus *Inula* and highlight significant intra- and interspecific variability, likely influenced by ecological and genetic factors.

## № 41

**Метаболитно профилиране на естествени популации на *Nectaroscordum siculum* ssp. *bulgaricum* чрез GC-MS и анализ на основните компоненти**

Изследването представя метаболитния профил на четири естествени популации на *Nectaroscordum siculum* ssp. *bulgaricum*, събрани от различни географски райони в България, чрез GC-MS анализ, комбиниран с хеометрични методи. За първи път е извършено цялостно изследване на метаболитния състав на вида, обхващащо както първични, така и вторични метаболити.

Идентифицирани са 52 метаболита от различни химични класове, включително аминокиселини, въглехидрати, органични киселини, липиди и фенолни киселини. Сред тях L-глутамин доминира в аминокиселинния профил, а ябълчната киселина е основен представител на органичните киселини. Въглехидратите са представени от моно- и дизахариди, докато феруловата киселина е водещ фенолен компонент.

Хеометричните анализи (РСА и клъстерен анализ) показват сходен качествен състав на метаболитите между популациите, като наблюдаваните различия се дължат основно на количествени вариации. Основните фактори, определящи диференциацията между пробите, са съдържанието на органични и фенолни киселини, както и липидните компоненти.

Резултатите подчертават ролята на екологичните и географските фактори за метаболитната вариабилност на вида и демонстрират приложимостта на GC-MS профилирането, съчетано с хеометрични методи, за оценка на ботаничния и географския произход на растителния материал.

Vrancheva R., Dincheva I., Aneva I., Pavlov A. 2020. Metabolite profiling by means of GC-MS combined with principal component analyses of natural populations of *Nectaroscordum siculum* ssp. *bulgaricum* (Janka) Stearn; Zeitschrift für Naturforschung Section C Journal of Biosciences; IF: 1.649, Q3.

This study characterizes the metabolite profile of four natural populations of *Nectaroscordum siculum* ssp. *bulgaricum* collected from different geographical regions in Bulgaria, using GC-MS analysis combined with chemometric approaches. This represents the first comprehensive investigation of the metabolite composition of this species, encompassing both primary and secondary metabolites.

A total of 52 metabolites were identified, including amino acids, carbohydrates, organic acids, lipids, and phenolic acids. L-glutamine was the predominant amino acid, while malic acid was the major organic acid. The carbohydrate fraction consisted of mono- and disaccharides, whereas ferulic acid was identified as the dominant phenolic compound.

Chemometric analyses (principal component analysis and cluster analysis) revealed a generally similar qualitative metabolite composition among populations, with differentiation mainly driven by quantitative variations. The primary discriminating factors included the levels of organic and phenolic acids, as well as lipid constituents.

These findings highlight the influence of environmental and geographical factors on the metabolic variability of the species and demonstrate the applicability of GC-MS-based metabolite profiling combined with chemometric tools for assessing the botanical and geographical origin of plant material.

\*\*\*

№ 42

**Ново ent-каураново дитерпеноидно съединение от надземните части на *Inula bifrons***

Фитохимичното изследване на хлороформния екстракт, получен от надземните части на *Inula bifrons*, доведе до изолирането на едно ново дитерпеноидно съединение от типа ent-кауран, заедно с дванадесет известни съединения, принадлежащи към различни класове, включително дитерпеноиди, сесквитерпеноиди, тритерпеноиди и стероли.

Структурите на изолираните съединения бяха установени чрез спектроскопски методи, включително <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C ЯМР, HRESIMS и IR анализи. Новото съединение е идентифицирано като ацилокси производно на ent-15 $\alpha$ -хидрокси-кауран-16-ен-19-ова киселина, носещо рядка 3-метилпентаноилна странична верига.

Освен новото съединение, бяха идентифицирани два дитерпеноида от типа ent-кауран, едно производно на еудезман, пет сесквитерпенови лактона, три тритерпеноидни съединения и  $\beta$ -ситостерол, като всички те се съобщават за първи път за *I. bifrons*.

Хемотаксономичният анализ показва, че установените съединения, особено сесквитерпеновите лактони и дитерпеноидите от типа ent-кауран, са характерни за род *Inula* и могат да служат като надеждни маркери за изясняване на филогенетичните взаимоотношения в рамките на рода и сродните таксони от трибата Inuleae.

Получените резултати допринасят за по-доброто изясняване на профила на вторичните метаболити при *Inula bifrons* и подчертават хемотаксономичното значение на дитерпеноидите от типа ent-кауран.

Ivanova V., Todorova M., Aneva I., Nedialkov P., Trendafilova A. 2020. A new ent- kaur-16-en-19-oic acid from the aerial parts of *Inula bifrons*. Biochemical Systematics and Ecology, 93:104141 IF: 1.381, Q3.

The phytochemical investigation of the chloroform extract obtained from the aerial parts of *Inula bifrons* resulted in the isolation of one new ent-kaurane diterpenoid, along with twelve known compounds belonging to different classes, including diterpenoids, sesquiterpenoids, triterpenoids, and sterols.

The structures of the isolated compounds were elucidated using spectroscopic techniques, including <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR, HRESIMS, and IR analyses. The new compound was identified as an acyloxy derivative of ent-15 $\alpha$ -hydroxy-kaur-16-en-19-oic acid, bearing a rare 3-methylpentanoyl side chain.

In addition to the new compound, two ent-kaurane diterpenoids, one eudesmane derivative, five sesquiterpene lactones, three triterpenoids, and  $\beta$ -sitosterol were identified, all of which are reported for the first time in *I. bifrons*.

Chemotaxonomic analysis indicates that the identified compounds, particularly sesquiterpene lactones and ent-kaurane diterpenoids, are characteristic for the genus *Inula* and may serve as useful markers for phylogenetic relationships within the genus and related taxa of the tribe Inuleae.

These findings contribute to a better understanding of the secondary metabolite profile of *Inula bifrons* and highlight the chemotaxonomic relevance of ent-kaurane diterpenoids.

\*\*\*

#### № 43

### Ресвератролът като антиастматичен агент: възможна роля на този стилбеноид при COVID-19.

Настоящото изследване обобщава и анализира наличните данни относно биологичната активност на ресвератрола като потенциален антиастматичен агент и възможната му роля при COVID-19. Ресвератролът е фенолен фитохимикал от групата на стилбеноидите, широко разпространен в растенията и известен със своите противовъзпалителни, антиоксидантни и антивирусни свойства.

Проведен е систематичен преглед и мета-анализ на публикувани изследвания, включващи общо стотици научни публикации, от които подбрани проучвания върху астма и COVID-19. Анализът показва значителна хетерогенност между изследванията по отношение на нивата на TNF- $\alpha$  ( $I^2 = 68.39\%$ ), което отразява вариабилността в експерименталните модели и условия.

Натрупаните данни показват, че ресвератролът модулира ключови възпалителни и имунологични пътища, включително NF- $\kappa$ B, цитокини като TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-1 $\beta$ , както и интерферон-свързани механизми. Чрез тези ефекти съединението може да намалява възпалението на дихателните пътища, хиперреактивността и оксидативния стрес при астма.

Допълнително, ресвератролът демонстрира антивирусна активност срещу различни ДНК и РНК вируси, включително инхибиране на вирусната репликация и потискане на цитокиновата буря – ключов фактор в патогенезата на тежките форми на COVID-19.

В заключение, ресвератролът се очертава като обещаващ биоактивен агент с потенциал за повлияване както на астматичните възпалителни процеси, така и на тежестта на COVID-19 чрез модулиране на имунния отговор, въпреки че са необходими допълнителни клинични изследвания за потвърждение на тези ефекти.

Parlar A., Muñoz-Acevedo A., Üçkardeş F., Jaimes L., Aneva I., Morales B., Unis A., Yumrutas O., Vinet R., Bungau S., Martinez J. 2021. Resveratrol as an anti-asthmatic agent: could this stilbenoid help against COVID-19 in any way? A meta-analysis, Boletín

Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 20 (5): 463 - 481, IF: 0.905, Q3.

This study provides a comprehensive evaluation of the biological activity of resveratrol as a potential anti-asthmatic agent and its possible role in the context of COVID-19. Resveratrol is a phenolic phytochemical belonging to the stilbenoid class, widely distributed in plants and known for its anti-inflammatory, antioxidant, and antiviral properties.

A systematic review and meta-analysis of the available literature were conducted, including a large body of published studies, with selected works focusing on asthma and COVID-19. The meta-analysis revealed significant heterogeneity in TNF- $\alpha$  levels across studies ( $I^2 = 68.39\%$ ), reflecting variability in experimental conditions and models.

Accumulated evidence indicates that resveratrol modulates key inflammatory and immune pathways, including NF- $\kappa$ B signaling, pro-inflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-1 $\beta$ , as well as interferon-related mechanisms. Through these effects, it may attenuate airway inflammation, hyperresponsiveness, and oxidative stress associated with asthma.

Moreover, resveratrol exhibits antiviral activity against a wide range of DNA and RNA viruses, including inhibition of viral replication and suppression of cytokine storm, a critical factor in severe COVID-19 progression.

In conclusion, resveratrol emerges as a promising bioactive compound with potential therapeutic relevance in both asthma and COVID-19 through modulation of immune and inflammatory responses, although further clinical validation is required.

\*\*\*

#### № 44

#### Терпеноиди при четири вида от род *Inula* в България

Настоящото изследване представя фитохимично проучване на хлороформните екстракти от надземните части на четири вида от род *Inula* – *Inula germanica*, *I. ensifolia*, *I. conyza* и *I. salicina*, разпространени в България. В резултат са идентифицирани общо 33 терпеноида, включващи тритерпеноиди, дитерпеноиди и сесквитерпенови лактони.

Чрез GC-MS анализ са установени тритерпеноиди от типовете  $\beta$ - и  $\alpha$ -амирин, лупеол, таракастерол и  $\psi$ -таракастерол, както и техните ацетати и палмитати. Структурите на някои 16-хидроксилирани производни са потвърдени чрез NMR спектроскопия.

Дитерпеноиди с ент-кауранов скелет са изолирани единствено от *I. conyza*, включително ент-каур-16-ен-19-ова киселина и нейни производни. Сесквитерпенови лактони са открити само при *I. germanica*, където са идентифицирани десет съединения от групите гермакранолиди и мелаμποлида.

Сравнителният анализ показва съществени различия в химичния състав между изследваните видове, като *I. ensifolia* и *I. salicina* се характеризират с отсъствие на сесквитерпенови лактони и дитерпеноиди. Проведеният анализ на главните компоненти (PCA) разкрива ясни хемотаксономични групи, базирани на типа терпенови скелети.

Получените резултати показват, че терпеновият състав, особено наличието на сесквитерпенови лактони и дитерпеноиди, може да служи като надежден хемотаксономичен маркер за разграничаване на видове от род *Inula*.

Trendafilova A., Ivanova V., Todorova M., Staleva P., Aneva I. 2021. Terpenoids in four *Inula* species from Bulgaria. Journal of the Serbian Chemical Society. IF: 1.24, Q3. <https://www.shd-pub.org.rs/index.php/JSCS/article/view/11011>

This study presents a phytochemical investigation of chloroform extracts obtained from the aerial parts of four *Inula* species growing in Bulgaria: *Inula germanica*, *I. ensifolia*, *I. conyza*, and *I. salicina*. A total of 33 terpenoids were identified, including triterpenoids, diterpenoids, and sesquiterpene lactones.

GC–MS analysis revealed the presence of triterpenoids belonging to  $\beta$ - and  $\alpha$ -amyrin, lupeol, taraxasterol, and  $\psi$ -taraxasterol types, along with their acetates and palmitates. The structures of selected 16-hydroxylated derivatives were further confirmed by NMR spectroscopy.

Diterpenoids with an ent-kaurane skeleton were detected exclusively in *I. conyza*, including ent-kaur-16-en-19-oic acid and its derivatives. Sesquiterpene lactones were found only in *I. germanica*, where ten structurally related compounds belonging to germacranolide and melampolide groups were identified.

Comparative analysis revealed significant differences in the chemical profiles of the studied species, with *I. ensifolia* and *I. salicina* lacking both sesquiterpene lactones and diterpenoids. Principal component analysis (PCA) demonstrated distinct chemotaxonomic clustering based on terpene skeleton types.

These findings highlight the importance of terpenoid composition, particularly the presence of sesquiterpene lactones and diterpenoids, as valuable chemotaxonomic markers for species differentiation within the genus *Inula*.

\*\*\*

#### № 45

### Употреба на природни продукти при комбинирано лечение на COVID-19: сърдечни рискове, свързани с удължаване на QT интервала

Глобалната пандемия от COVID-19 наложи бързо търсене на ефективни терапевтични подходи, включително използването на репозиционирани лекарствени средства и природни продукти. При липсата на специфично антивирусно лечение широко се прилагат комбинирани терапии, които обаче пораждаат съществени въпроси, свързани с безопасността, особено по отношение на кардиотоксичността.

Настоящото изследване акцентира върху риска от удължаване на QT интервала, свързан както с конвенционални медикаменти, така и с природни продукти, използвани при лечението на COVID-19. Особено внимание се отделя на широко използвани лекарствени средства като хидроксихлорохин, азитромицин и антивирусни препарати, чиято комбинирана употреба е асоциирана с повишена честота на аритмии и torsades de pointes. Основният механизъм; е свързан с

инхибиране или нарушена функция на hERG калиевия канал, който играе ключова роля в сърдечната реполяризация.

Нарастващата употреба на лечебни растения и природни съединения—често възприемани като безопасни поради свободния им достъп—допълнително увеличава риска. Установено е, че редица растителни метаболити, включително алкалоиди и флавоноиди, могат да инхибират hERG каналите и по този начин да допринасят за удължаване на QT интервала и възникване на нежелани сърдечни ефекти.

Получените резултати подчертават необходимостта от внимателно електрокардиографско мониториране и оценка на риска при комбиниране на конвенционални и природни терапевтични средства. Повишаването на информираността относно лекарствено-растителните взаимодействия и потенциалната кардиотоксичност е от съществено значение за гарантиране на безопасността на пациентите. Необходими са допълнителни клинични и фармакологични изследвания за по-задълбочено изясняване на профила на безопасност на тези терапевтични комбинации.

Eftekhari M., Enayati A., Doustimotlagh A., Farzaei M., Aneva I. 2021. Natural Products in Combination Therapy for COVID-19: QT Prolongation and Urgent Guidance, *Natural Product Communications* 16(9): 1-3. IF: 0.468, Q3.

The global COVID-19 pandemic has necessitated the rapid identification of effective therapeutic strategies, including the use of repurposed drugs and natural products. In the absence of definitive antiviral treatments, combination therapies have been widely explored; however, these approaches raise significant safety concerns, particularly regarding cardiotoxicity.

This study highlights the risk of QT interval prolongation associated with both conventional pharmacological agents and natural products used in COVID-19 management. Special attention is given to widely applied drugs such as hydroxychloroquine, azithromycin, and antiviral agents, whose combined use has been linked to increased incidence of arrhythmias and torsades de pointes. The underlying mechanism is primarily related to the inhibition or dysfunction of the hERG potassium channel, a critical regulator of cardiac repolarization.

In addition, the growing use of herbal medicines and natural compounds—often perceived as safe due to their over-the-counter availability—introduces further risks. Several plant-derived substances, including alkaloids and flavonoids, have been identified as potential hERG channel inhibitors, thereby contributing to QT prolongation and adverse cardiac events.

The findings underscore the importance of careful electrocardiographic monitoring and risk assessment when combining conventional and natural therapies. Increased awareness of potential drug–herb interactions and cardiotoxic effects is essential to ensure patient safety. Further clinical and pharmacological investigations are urgently needed to better understand the safety profiles of these therapeutic combinations.

\*\*\*

**Количествено етноботанично изследване на лечебни растения и биологичната активност на два широко използвани вида в област Банну, Пакистан**

Изследването представя количествен етнофармакологичен анализ на лечебните растения, използвани от местното население в област Банну, Пакистан, както и оценка на биологичната активност на два често прилагани вида – *Withania coagulans* и *Mentha viridis*. Данните са събрани чрез полуструктурирани интервюта със 115 информатори, включително традиционни лечители, в периода 2018–2019 г.

Документирани са 85 растителни вида, принадлежащи към 47 семейства, като най-добре представени са Solanaceae и Moraceae. Най-високи стойности на индексите use-value (UV) и relative frequency of citation (RFC) са отчетени за *Withania coagulans* и *Mentha viridis*, което подчертава тяхното значение в местната традиционна медицина. Анализът на използваните растителни части показва преобладаване на листа и плодове, а най-често срещаните форми на приложение са пресни материали и прахообразни препарати. Основните терапевтични приложения обхващат заболявания на храносмилателната система, дерматологични и респираторни нарушения.

Биологичната активност на избраните два вида е оценена чрез антиоксидантни (DPPH) и антибактериални тестове, като резултатите показват дозозависимо увеличение на активността и наличие на инхибиторен ефект спрямо изследваните бактериални щамове.

Получените резултати подчертават значението на традиционното знание като източник на биоактивни съединения и потенциал за бъдещи фармакологични изследвания, както и необходимостта от опазване на растителното разнообразие и етномедицинското наследство в региона.

Ullah I., Ullah I., Ali M., Durrani F., Khan S., Hussain D., Mehmood S., Khan S., Ullah M., Hussain K., Bahadur S., Aneva I., Bussmann R. 2021. Quantitative study of medicinal plants and biological activities of two common species used by inhabitants of district Bannu, Pakistan. Acta Ecologica Sinica. IF: 1.414, Q3.

This study presents a quantitative ethnopharmacological analysis of medicinal plants used by local communities in the district of Bannu, Pakistan, along with an evaluation of the biological activities of two commonly utilized species, *Withania coagulans* and *Mentha viridis*. Data were collected through semi-structured interviews with 115 informants, including traditional healers, during the period 2018–2019.

A total of 85 plant species belonging to 47 families were documented, with Solanaceae and Moraceae being the most represented. The highest values of use-value (UV) and relative frequency of citation (RFC) were recorded for *Withania coagulans* and *Mentha viridis*, highlighting their importance in local traditional medicine.

Analysis of plant parts used indicated a predominance of leaves and fruits, while fresh materials and powdered forms were the most common modes of application. The primary therapeutic uses were associated with digestive, dermatological, and respiratory disorders. The biological activity of the selected species was assessed through antioxidant (DPPH) and antibacterial assays, demonstrating concentration-dependent activity and inhibitory effects against tested bacterial strains.

These findings emphasize the importance of traditional knowledge as a valuable source of bioactive compounds and highlight its potential for future pharmacological research, as well as the need for conservation of both plant diversity and ethnomedicinal heritage.

\*\*\*

**№ 47**

**Промени в земеползването и земното покритие и тяхното въздействие върху биоразнообразието и екосистемните услуги в област Курам, Пакистан**

Настоящото изследване анализира промените в земеползването и земното покритие (LULC) и тяхното въздействие върху биоразнообразието и екосистемните услуги в област Курам, Пакистан, за период от 27 години (1989–2015). Използвани са дистанционни изследвания и ГИС анализ чрез обработка на сателитни изображения (Landsat) със супервизирана класификация (maximum likelihood), комбинирани със социологически данни от интервюта с местното население.

Резултатите показват съществени пространствено-времеви промени в основните категории земно покритие. Наблюдава се значително намаляване на горските територии (с около 21%) и пасищата (с около 9%), съпроводено с увеличаване на земеделските площи (с приблизително 15%) и деградиралите (пустеещи) земи.

Основните движещи фактори за тези промени са нарастващото население, разширяването на земеделието и повишеното търсене на дървесина и гориво. Преобразуването на естествени местообитания в земеделски земи води до деградация на екосистемите и намаляване на видовото разнообразие.

В резултат на антропогенния натиск е установено, че значителен брой растителни видове са застрашени: 22 вида са критично застрашени, 15 – застрашени, 65 – редки, а 29 – уязвими. Основните заплахи включват обезлесяване, урбанизация, свръхексплоатация и климатични промени.

Изследването подчертава необходимостта от устойчиво управление на природните ресурси и прилагане на стратегии за опазване на биоразнообразието, като същевременно отчита значението на екосистемните услуги за местното население.

Ali M., Yar P., Khan S., Muhammad S., Hussain W., Hussain K., Hussain G., Aneva I., Phin D., Bussmann R. 2022. Land use and land cover modification and its impact on biodiversity and the ecosystem services in District Kurram, Pakistan. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 21 (3): 365 – 388, IF: 1.00, Q3.

This study examines land use and land cover (LULC) changes and their impact on biodiversity and ecosystem services in the Kurram District, Pakistan, over a 27-year period (1989–2015). Remote sensing and GIS techniques were employed, including Landsat satellite imagery processed through supervised maximum likelihood classification, complemented by socio-ecological data obtained from structured interviews with local inhabitants.

The results reveal significant spatiotemporal transformations in major land cover categories. Forest areas decreased by approximately 21%, and rangelands declined by about 9%, while agricultural land and barren areas increased by around 15% and 17.8%, respectively. These changes are primarily driven by population growth, agricultural expansion, and increased demand for timber and fuelwood. The conversion of natural habitats into agricultural land has led to ecosystem degradation and a decline in native biodiversity. A considerable number of plant species were found to be under threat, including 22 critically endangered, 15 endangered, 65 rare, and 29 vulnerable species. Major threats include deforestation, urbanization, overexploitation of natural resources, and climate change. The findings highlight the urgent need for sustainable land management and biodiversity conservation strategies, while emphasizing the crucial role of ecosystem services for local communities.

\*\*\*

#### № 48

##### **Химична характеристика, антиоксидантна активност и инхибиторен потенциал спрямо $\alpha$ -амилаза и ацетилхолинестераза на *Angelica panicii* Vandas ex Velen**

Настоящото изследване представя сравнителен анализ на химичния състав и биологичната активност на етерични масла и хексанови екстракти от плодове, листа и корени на ендемичния балкански вид *Angelica panicii*. Химичният състав е определен чрез GC-FID/MS анализ, а съдържанието на кумарини – чрез HPLC.

Установени са значителни различия в състава на етеричните масла между различните растителни органи. Плодовото масло е доминирано от монотерпенови въглеводороди, като (+)- $\beta$ -феландрен (69.1%) е основен компонент, докато в листата и корените преобладават сесквитерпеноиди.

От хексановия екстракт на плодовете са изолирани шест кумаринови съединения, включително императорин, изоимператорин, оксипеucedанин и умбелипренин, като последният е установен за първи път за вида.

Биологичните тестове показват, че екстрактите и етеричните масла притежават сравнително ниска антиоксидантна активност, което вероятно се дължи на липсата на фенолни съединения. Най-висока активност при DPPH теста проявява екстрактът от листа.

Изследваните проби показват слаб до умерен инхибиторен ефект спрямо  $\alpha$ -амилаза, но значителна инхибиция на ацетилхолинестераза (AChE). Най-висока активност демонстрират етеричните масла от плодове и листа (над 80% инхибиране), както и хексановият екстракт от плодове.

Получените резултати показват, че *A. panicii* представлява обещаващ източник на биоактивни съединения с потенциално приложение при невродегенеративни заболявания.

Trendafilova A., Ozek G., Yur S., Goger F., Ozek T., Rangelov M., Todorova M. Aneva I. 2022. Chemical characterization, antioxidant activity,  $\beta$ -amylase and acetylcholinesterase

inhibitory potential of *Angelica paniczii* Vandas ex Velen. Boletin LatinoAmericano Y Del Caribe De Plantas Medicinales Y Aromaticas, 21(4): 418-430, IF: 1.00, Q3.

This study presents a comparative investigation of the chemical composition and biological activity of essential oils and hexane extracts obtained from fruits, leaves, and roots of the Balkan endemic species *Angelica paniczii*. Chemical profiling was performed using GC-FID/MS analysis, while coumarin content was quantified by HPLC.

Significant differences in essential oil composition were observed among plant organs. The fruit oil was dominated by monoterpene hydrocarbons, with (+)- $\beta$ -phellandrene (69.1%) as the  $\alpha$ -pinene component, whereas sesquiterpenoids prevailed in leaf and root oils.

Six coumarins were isolated from the fruit hexane extract, including imperatorin, isoimperatorin, oxypeucedanin, and umbelliprenin, the latter being reported for the first time in this species.

Biological assays revealed relatively low antioxidant activity of the tested samples, likely due to the absence of phenolic compounds. The leaf extract exhibited the highest radical scavenging capacity in the DPPH assay.

The extracts and essential oils showed weak to moderate inhibition of  $\alpha$ -amylase but demonstrated significant acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activity. The strongest effects were observed for fruit and leaf essential oils (>80% inhibition), as well as the fruit hexane extract.

These findings suggest that *A. paniczii* is a promising source of bioactive compounds with potential applications in the management of neurodegenerative disorders.

\*\*\*

#### № 49

#### Полифенолни съединения, тритерпени, карлина оксид, антиоксидантна активност и въглехидратен профил на различни растителни части на *Carlina vulgaris*, *C. acanthifolia* и *C. corymbosa*

Настоящото изследване представя комплексен фитохимичен анализ и оценка на антиоксидантната активност на различни растителни части (корени и надземни части) от три вида от род *Carlina*.

Определени са общото съдържание на фенолни съединения и флавоноиди, индивидуалният фенолен профил (чрез HPLC), както и съдържанието на тритерпени, фитостероли и карлина оксид. Установено е, че най-високо съдържание на общи феноли (6.50 mg GAE/g dw) се наблюдава в етанолов екстракт от корени на *C. acanthifolia*.

Сред идентифицираните фенолни съединения доминират хлорогенова, ферулова и салицилова киселина, както и флавоноидите рутин, хесперидин и кверцетин, като най-високи концентрации са установени в корените.

Антиоксидантната активност е оценена чрез четири метода (DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC), като водните екстракти показват по-висока активност, особено при CUPRAC метода. Наблюдава се силна корелация между съдържанието на полифеноли и антиоксидантния потенциал ( $r^2 > 0.85$ ).

Тритерпени като бетулин, бетулинова, олеанолова и урсолова киселина, както и  $\beta$ -ситостерол са идентифицирани, като най-голямо разнообразие се наблюдава в надземните части. Карлина оксид е установен основно в корените на *C. acanthifolia* (до 15.06 mg/g dw).

Допълнително е анализиран въглехидратният профил, като корените на *C. acanthifolia* се отличават с високо съдържание на инулин (до 12.14 g/100 g dw) и общи фруктани. Резултатите показват, че изследваните видове са ценен източник на биологично активни съединения с потенциално приложение в хранителната, фармацевтичната и козметичната индустрия.

Saralieva E., Petkova N., Ivanov I., Aneva I., Georgiev V., Nikolov K. 2023. Polyphenolic Compounds, Triterpenes, Carlina Oxide, Antioxidant Activity and Carbohydrate Profile of Different Vegetal Parts of *Carlina vulgaris* L., *Carlina acanthifolia* All. and *Carlina corymbosa* L. *Tropical Journal of Natural Product Research* 7(10):4242-4248 IF: 0,2, Q3

This study provides a comprehensive phytochemical characterization and evaluation of antioxidant activity in different vegetal parts (roots and aerial parts) of three *Carlina* species. Total phenolic and flavonoid contents, individual phenolic profiles (HPLC), as well as triterpenes, phytosterols, and carlina oxide were determined. The highest total phenolic content (6.50 mg GAE/g dw) was found in the ethanol extract of *C. acanthifolia* roots.

The dominant phenolic compounds included chlorogenic, ferulic, and salicylic acids, along with flavonoids such as rutin, hesperidin, and quercetin, predominantly accumulated in root tissues.

Antioxidant activity was assessed using DPPH, ABTS, FRAP, and CUPRAC assays. Water extracts generally exhibited higher antioxidant capacity, particularly in the CUPRAC assay. Strong correlations were observed between total phenolic content and antioxidant activity ( $r^2 > 0.85$ ).

Triterpenes (betulin, betulinic acid, oleanolic acid, ursolic acid) and phytosterols ( $\beta$ -sitosterol) were identified, with higher diversity in aerial parts. Carlina oxide was predominantly detected in *C. acanthifolia* roots (up to 15.06 mg/g dw).

Carbohydrate analysis revealed high levels of inulin-type fructans, particularly in *C. acanthifolia* roots (up to 12.14 g/100 g dw).

These findings highlight the potential of *Carlina* species as valuable sources of bioactive compounds for applications in food, pharmaceutical, and cosmetic industries.

\*\*\*

#### № 50

### Хидрометаноловият екстракт от *Fraxinus excelsior* модулира ревматоиден артрит, индуциран с адювант на Фройнд при плъхове – акцент върху възпалителните и антиоксидантни механизми

Изследването оценява терапевтичния потенциал на хидрометанолов екстракт от кора на *Fraxinus excelsior* (FEE) в модел на ревматоиден артрит (RA), индуциран с Complete Freund's Adjuvant при плъхове.

Екстрактът е прилаган в три дози (20, 40 и 80 mg/kg), като ефектите са сравнени с преднизолон. Оценени са поведенчески (hot plate тест), биохимични (MDA, GSH), ензимни (MMP-2, MMP-9) и хистопатологични показатели.

Резултатите показват, че FEE значително намалява болковата чувствителност, като най-силен ефект се наблюдава при дозата 80 mg/kg, сравнима с преднизолон.

Наблюдава се съществено намаляване на малондиалдехид (MDA) и повишаване на глутатион (GSH), което потвърждава антиоксидантния ефект на екстракта.

Активността на матриксните металопротеинази MMP-2 и MMP-9 е значително потисната, което предполага защита на хрущялната тъкан и инхибиране на възпалителните процеси.

Хистопатологичният анализ (фиг. 6, стр. 10) показва намалена синовиална хиперплазия, по-ниска инфилтрация на възпалителни клетки и запазена структура на хрущяла при третирани групи, особено при висока доза.

LC-MS/MS анализът потвърждава наличие на хидроксикумарини (изофраксидин, фраксетин, фраксинол), които са ключови за наблюдаваните биологични ефекти.

Получените резултати демонстрират, че FEE притежава силна противовъзпалителна и антиоксидантна активност и представлява перспективен кандидат за допълваща терапия при ревматоиден артрит.

Asar Sh., Gravandi M., Khazaei H., Fakhri S., Iranpanah A., Mohammadi-Noori E., Rashidi K., Aneva I., Naseri M., Farzaei M. 2025. Fraxinus excelsior L. Hydromethanolic Extract Modulates Rheumatoid Arthritis Induced by Complete Freund's Adjuvant in Rats Emphasizing Inflammatory and Antioxidant Pathways. Jundishapur J Nat Pharm Prod. 20(2): IF: 1, Q3

This study investigates the therapeutic potential of a hydromethanolic bark extract of *Fraxinus excelsior* (FEE) in a Complete Freund's Adjuvant-induced rheumatoid arthritis (RA) model in rats.

Animals were treated with three doses of FEE (20, 40, and 80 mg/kg), and outcomes were compared with prednisolone. Behavioral, biochemical, enzymatic, and histopathological parameters were evaluated.

FEE significantly reduced pain sensitivity in the hot plate test, with the highest dose (80 mg/kg) showing effects comparable to prednisolone.

Biochemical analysis revealed a marked decrease in malondialdehyde (MDA) levels and restoration of glutathione (GSH), confirming strong antioxidant activity.

Furthermore, FEE significantly suppressed MMP-2 and MMP-9 activity, suggesting inhibition of extracellular matrix degradation and cartilage damage.

Histopathological findings (Figure 6, page 10) demonstrated reduced synovial hyperplasia, inflammatory infiltration, and cartilage destruction, particularly at higher doses.

LC-MS/MS analysis confirmed the presence of hydroxycoumarins (e.g., isofraxidin, fraxetin), which likely contribute to the observed anti-inflammatory and antioxidant effects.

Overall, FEE exhibits potent anti-inflammatory and antioxidant properties and may serve as a promising complementary therapeutic agent in rheumatoid arthritis management.

## № 51

**Алкалоиден профил и ацетилхолинестеразно-инхибиторна активност на видове от род *Corydalis***

Настоящото изследване разглежда алкалоидния състав и ацетилхолинестеразно-инхибиторната активност на три вида от род *Corydalis* (*C. solida*, *C. marschalliana* и *C. bulbosa*), естествено разпространени в България.

Чрез GC-MS анализ са идентифицирани 13 изохинолинови алкалоида, принадлежащи към различни структурни групи – протопинови, апорфинови, бензилизохинолинови, протоберберинови и спиробензилизохинолинови.

Доминиращи съединения са алкалоидите от апорфинов тип, като *bulbocarpine* е основен компонент в стъблата и цветовете на *C. solida* и *C. marschalliana*, докато *fumarophycine* преобладава в листните екстракти.

Ацетилхолинестеразно-инхибиторната активност на екстрактите е значителна, като най-висока активност проявяват листните екстракти на *C. solida* и *C. marschalliana* ( $IC_{50} \approx 0.36$  mg/mL), стойности близки до стандартния инхибитор галантамин ( $IC_{50} = 0.31$  mg/mL).

Резултатите показват, че биологичната активност е свързана с наличието на ключови алкалоиди като *bulbocarpine*, *canadine* и *corydine*, както и с възможни синергични ефекти между компонентите на екстрактите.

Получените данни определят изследваните видове като перспективен източник на природни съединения с потенциално приложение при невродегенеративни заболявания.

Ivanov I., Vrancheva R., Aneva I., Dincheva I., Badjakov I., Pavlov A. 2020. Alkaloids profiling and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Corydalis* species. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology* 21(53&54):12-20. IF: 0.24, Q4.

The present study investigates the alkaloid profiles and acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activity of three *Corydalis* species (*C. solida*, *C. marschalliana*, and *C. bulbosa*) naturally occurring in Bulgaria.

GC-MS analysis identified thirteen isoquinoline alkaloids belonging to several structural classes, including protopine, aporphine, benzyloquinoline, protoberberine, and spirobenzyloquinoline types.

Aporphine alkaloids were predominant, with *bulbocarpine* as a major constituent in stems and flowers, while *fumarophycine* dominated in leaf extracts.

The alkaloid extracts exhibited considerable AChE inhibitory activity, with the strongest effects observed in leaf extracts of *C. solida* and *C. marschalliana* ( $IC_{50} \approx 0.36$  mg/mL), comparable to the reference compound galanthamine ( $IC_{50} = 0.31$  mg/mL).

The observed bioactivity is attributed to the presence of key isoquinoline alkaloids such as *bulbocarpine*, *canadine*, and *corydine*, as well as potential synergistic interactions among extract constituents.

These findings highlight *Corydalis* species as promising sources of natural acetylcholinesterase inhibitors with potential applications in the management of neurodegenerative disorders.

\*\*\*

## № 52

### Съдържание на фенолни съединения и антиоксидантен капацитет на *Inula britannica* от различни местообитания в България

Настоящото изследване представя сравнителен анализ на съдържанието на фенолни съединения и антиоксидантния капацитет на метанолни екстракти от надземните части на *Inula britannica*, събрани от 11 различни естествени местообитания в България.

Общото съдържание на феноли варира в границите 85.35–141.01 mg GAE/g сух екстракт, а флавоноидите – от 19.66 до 36.80 mg CE/g сух екстракт, като се наблюдават статистически значими различия между отделните популации.

Антиоксидантният капацитет, оценен чрез DPPH и ABTS методи, показва съществена вариабилност между пробите. DPPH активността корелира добре както с общото съдържание на феноли, така и с флавоноидите, докато при ABTS се установява умерена зависимост само с фенолното съдържание.

HPLC анализът разкрива, че основните фенолни компоненти са хлорогенова киселина (5-CQA) и дикафеоилхининови киселини, като 1,5-DCQA е най-разпространеният естер във всички проби.

Мултивариантният анализ (PCA) показва ясно разграничение между популациите въз основа на съдържанието на феноли, флавоноиди и индивидуални фенолни киселини, като първите две главни компоненти обясняват над 70% от вариацията.

Получените резултати подчертават значителната химична вариабилност между популациите на *I. britannica*, която се отразява пряко върху антиоксидантния потенциал, и могат да бъдат използвани при селекция на популации с високо съдържание на биоактивни съединения.

Ivanova, V., Todorova, M., Rangelov, M., Aneva, I., Trendafilova, A. 2020. Phenolic content and antioxidant capacity of *Inula britannica* from different habitats in Bulgaria. *Bulgarian Chemical Communications*, 2020, 52, pp. 168–173, IF: 0.238, Q4.

This study presents a comparative evaluation of phenolic content and antioxidant capacity of methanolic extracts obtained from aerial parts of *Inula britannica* collected from 11 natural habitats in Bulgaria.

Total phenolic content ranged from 85.35 to 141.01 mg GAE/g dry extract, while total flavonoid content varied between 19.66 and 36.80 mg CE/g dry extract, with statistically significant differences among populations.

Antioxidant capacity assessed by DPPH and ABTS assays showed considerable variation. DPPH activity exhibited strong correlation with both total phenolic and flavonoid content, whereas ABTS activity showed moderate correlation only with total phenolics.

HPLC analysis revealed chlorogenic acid (5-CQA) and dicaffeoylquinic acids as the dominant phenolic constituents, with 1,5-DCQA being the most abundant compound across all samples.

Principal component analysis (PCA) demonstrated clear clustering of populations based on phenolic composition, with the first two principal components explaining over 70% of total variance.

These findings highlight substantial intraspecific variability in *I. britannica*, influencing its antioxidant potential and supporting the selection of populations with enhanced bioactive profiles.

\*\*\*

### № 53

#### Биоцидна активност на етерично масло от *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*

Настоящото изследване оценява биоцидния потенциал на етерично масло от *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* върху плевелни видове, културни растения и фитофагни насекоми.

Химичният състав на маслото е определен чрез GC-MS анализ, като карвакрол (86.4%) е установен като доминиращ компонент, придружен от p-цимен и  $\gamma$ -терпинен.

Етеричното масло проявява силна фитотоксична активност, като напълно инхибира покълването на семена на тестови плевели при концентрация 2  $\mu\text{L}/\text{mL}$  in vitro. При условия в почва са необходими по-високи концентрации (5–10  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), което се дължи на летливостта на компонентите.

При пост-емергентно третиране е установена висока леталност при плевелните видове, достигаща 100% при 10  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , докато културните растения (картоф) показват значително по-висока устойчивост.

Инсектицидната активност срещу *Myzus persicae* е силно изразена, като се наблюдава 100% смъртност при концентрация 3  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , с  $\text{IC}_{50}$  около 2.2  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

Резултатите показват, че биоцидната активност е дозозависима и вероятно се дължи основно на високото съдържание на карвакрол, който индуцира нарушения в метаболитните процеси и оксидативен стрес в таргетните организми.

Получените данни подчертават потенциала на етеричното масло като екологично съобразна алтернатива на синтетичните пестициди.

Nikolova M., Yovkova M., Jankova E., Traykova B., Stefanova T., Aneva I., Berkov S. 2021. Biocidal Activity of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* Essential Oil. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 69(5):569-578. IF: 0.47 Q4.

This study evaluates the biocidal potential of essential oil from *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* against weeds, crop plants, and phytophagous insects.

GC-MS analysis revealed carvacrol (86.4%) as the predominant component, accompanied by p-cymene and  $\gamma$ -terpinene.

The essential oil exhibited strong phytotoxic activity, completely inhibiting seed germination of target weeds at 2  $\mu\text{L}/\text{mL}$  under in vitro conditions. In soil, higher concentrations (5–10  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) were required due to volatility effects.

Post-emergence application resulted in high lethality of weed species, reaching 100% at 10  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , while crop plants (potato) showed significantly higher tolerance.

The insecticidal activity against *Myzus persicae* was pronounced, with complete mortality at 3  $\mu\text{L}/\text{mL}$  and an  $\text{IC}_{50}$  value of approximately 2.2  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

The observed effects were dose-dependent and are primarily attributed to the high carvacrol content, which induces metabolic disruption and oxidative stress in target organisms.

These findings highlight the potential of oregano essential oil as an eco-friendly alternative to synthetic pesticides.

\*\*\*

#### № 54

##### Могат ли mTOR инхибиторите да се използват при терапията на COVID-19?

Настоящото изследване разглежда потенциала на инхибиторите на mTOR (mammalian target of rapamycin) като терапевтични агенти при COVID-19. mTOR представлява ключов сигнален пр-отеин, участващ в регулацията на клетъчния растеж, метаболизма и имунния отговор, функциониращ чрез два основни комплекса – mTORC1 и mTORC2.

При инфекция със SARS-CoV-2 се наблюдава активизиране на възпалителни сигнални пътища и свръхпродукция на провъзпалителни цитокини (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ), което може да доведе до т.нар. „цитокинова буря“ и тежки клинични усложнения.

Инхибиторите на mTOR, включително сиролимус, еверолимус и темсиролимус, показват способност да модулират както врождения, така и придобития имуен отговор чрез потискане на цитокиновата продукция и регулиране на T- и B-клетъчната активност.

Експериментални и клинични данни показват, че тези съединения могат да проявяват антивирусна активност чрез инхибиране на Р13К/АКТ/mTOR сигналният път, който се използва от множество вируси за репликация.

Допълнително, mTOR инхибиторите могат да намалят тежестта на възпалителния отговор и да подобрят клиничния изход, както е показано при пациенти с тежка грипна инфекция (H1N1).

Въпреки обещаващите резултати, приложението им при COVID-19 изисква внимателна оценка поради потенциални лекарствени взаимодействия и странични ефекти.

Aneva I., Habtemariam S., Banach M., Sil P., Sarkar K., Sahebnaasagh A., Kamal M., Khayatkashani M., Khayat H. 2022. Can We Use mTOR Inhibitors for COVID-19 Therapy? Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening 25(11):1805-1808 IF: 1.339 Q4.

This study explores the potential use of mTOR (mammalian target of rapamycin) inhibitors as therapeutic agents in COVID-19. mTOR is a key signaling protein involved in the

regulation of cell growth, metabolism, and immune responses, functioning through two distinct complexes, mTORC1 and mTORC2.

SARS-CoV-2 infection triggers activation of inflammatory signaling pathways and excessive production of pro-inflammatory cytokines (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ), leading to the development of cytokine storm and severe clinical manifestations.

mTOR inhibitors, including sirolimus, everolimus, and temsirolimus, have demonstrated the ability to modulate both innate and adaptive immune responses by suppressing cytokine production and regulating T- and B-cell activity.

Experimental and clinical evidence suggests that these agents may exert antiviral effects by targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway, which is exploited by various viruses for replication.

Furthermore, mTOR inhibition may attenuate hyperinflammatory responses and improve clinical outcomes, as observed in patients with severe influenza (H1N1).

Although promising, the clinical application of mTOR inhibitors in COVID-19 requires careful consideration due to potential drug interactions and adverse effects.

\*\*\*

## № 55

### Растителни продукти с ацетилхолинестеразно-инхибиторна активност за контрол на насекоми

Настоящото изследване оценява ацетилхолинестеразно-инхибиторната активност на етерични масла и метанолни екстракти от растителни видове, принадлежащи към семейства Amaryllidaceae, Asteraceae, Brassicaceae и Lamiaceae, с оглед на тяхното приложение в контрола на насекоми.

Активността е определена *in vitro* чрез модифицирания колориметричен метод на Ellman, като изследваните проби са класифицирани в три групи според степента на инхибиране.

Най-висока активност, сравнима с тази на стандартния инхибитор галантамин, е установена при етеричните масла от *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Satureja pilosa*, *Monarda fistulosa* и *Thymus longedentatus*, както и при метанолния екстракт от *Leucosium aestivum*.

GC-MS анализът показва, че основните биологично активни компоненти на етеричните масла са монотерпенови феноли, предимно карвакрол и тимол, докато при *L. aestivum* основен активен компонент е алкалоидът галантамин.

Резултатите показват, че етеричните масла проявяват по-силна инхибиторна активност в сравнение с метанолните екстракти, което се обяснява с по-високото съдържание на летливи терпенови съединения.

Установената висока ацетилхолинестеразна инхибиторна активност предполага потенциално инсектицидно действие на изследваните растителни продукти и тяхното приложение като екологично съобразна алтернатива на синтетичните пестициди.

Georgiev B., Nikolova M., Aneva I., Dzhurmanski A., Sidjimova B., Berkov S. 2022. Plant products with acetylcholinesterase inhibitory activity for insect control. *BioRisk* 17: 309 – 315. Q4.

This study evaluates the acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activity of essential oils and methanolic extracts obtained from plant species belonging to the families Amaryllidaceae, Asteraceae, Brassicaceae, and Lamiaceae, with potential application in insect control. AChE inhibition was assessed in vitro using a modified Ellman's colorimetric method, and the tested samples were classified into three groups based on their inhibitory potency. The strongest activity, comparable to the reference inhibitor galanthamine, was observed for essential oils of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Satureja pilosa*, *Monarda fistulosa*, and *Thymus longedentatus*, as well as for the methanolic extract of *Leucosium aestivum*. GC-MS analysis revealed that monoterpenoid phenols, particularly carvacrol and thymol, are the main bioactive constituents of the essential oils, whereas galanthamine was identified as the major active alkaloid in *L. aestivum*. Essential oils exhibited stronger AChE inhibitory activity compared to methanolic extracts, likely due to the higher content of volatile terpenoid compounds. The observed high AChE inhibitory activity suggests potential insecticidal properties of the studied plant products, supporting their use as eco-friendly alternatives to synthetic pesticides.

\*\*\*

#### № 56

#### Биоактивни съединения в диворастящи популации на *Arctostaphylos uva-ursi* от България

Настоящото изследване представя сравнителен анализ на биоактивните съединения в листа от три диворастящи популации на *Arctostaphylos uva-ursi* (мечо грозде), събрани от Пирин, Витоша и Родопите.

Химичният състав на метанолните екстракти е определен чрез GC-MS анализ, като са идентифицирани както първични, така и вторични метаболити – фенолни киселини, флавоноиди, тритерпени, стероли, мастни киселини, захари и полиоли.

Сред вторичните метаболити в най-високи количества са установени арбутин, галова киселина и хининова киселина, както и катехин и тритерпеноиди ( $\alpha$ - и  $\beta$ -амирин, лупеол, уваол).

Общото съдържание на фенолни съединения варира от 137 до 182.98 mg GAE/g екстракт, а съдържанието на арбутин – от 6.8% до 8.4%, като най-високи стойности са отчетени за популацията от Витоша.

Установени са количествени различия в химичния профил между отделните популации, които вероятно се дължат на влиянието на екологични фактори като надморска височина, местообитание и воден стрес.

Резултатите разширяват познанията за химичния състав на *A. uva-ursi* в южната част на ареала му и подчертават значението на екологичните условия за натрупването на биоактивни съединения.

Nikolova M., Aneva I., Zhelev P., Berkov S., Yankova E. 2024. Bioactive compounds of *Arctostaphylos uva-ursi* wild-growing populations from Bulgaria. *International Journal of Secondary Metabolite*, 11(1):113-120; IF: 1,03, Q4.

This study presents a comparative analysis of bioactive compounds in leaves of three wild-growing populations of *Arctostaphylos uva-ursi* (bearberry) collected from Pirin, Vitosha, and the Rhodope Mountains in Bulgaria.

The chemical composition of methanolic extracts was determined using GC-MS analysis, revealing a wide range of primary and secondary metabolites, including phenolic acids, flavonoids, triterpenes, sterols, fatty acids, saccharides, and polyols.

Among the identified compounds, arbutin, gallic acid, and quinic acid were present in the highest amounts, along with catechin and triterpenoids such as  $\alpha$ - and  $\beta$ -amyrin, lupeol, and uvaol.

Total phenolic content ranged from 137 to 182.98 mg GAE/g extract, while arbutin content varied between 6.8% and 8.4%, with the highest values recorded in samples from Vitosha Mountain.

Quantitative differences in chemical profiles among populations were observed, likely influenced by environmental factors such as altitude, habitat type, and water availability.

These findings contribute to the characterization of *A. uva-ursi* chemical composition at the southern edge of its distribution range and highlight the role of ecological factors in shaping metabolite accumulation.