

РЕЦЕНЗИЯ

от д-р Илина Николаева Кръстева – професор,
на материалите, представени за участие в конкурс
за заемане на академичната длъжност **“Професор“**
в **Институт по Органична химия с Център по Фитохимия (ИОХЦФ), БАН,**
област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика;
професионално направление 4.2 Химически науки; научна специалност „Биоорганична
химия, химия на природните и физиологично активните вещества“

В конкурса за академичната длъжност „Професор“, обявен в Държавен вестник, бр. 43 от 31.05.2019 г. и в интернет-страница на ИОХЦФ, БАН, за нуждите на лаборатория „Химия на природните вещества“, като единствен кандидат участва:

доц. д-р Милена Петкова Попова
от лаб. „Химия на природните вещества“, ИОХЦФ, БАН.

1. Общо представяне на получените материали

Представеният от доц. д-р Милена Попова комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на ИОХЦФ и отговаря на критериите на ИОХЦФ-БАН за заемане на академичната длъжност **“професор“**.

За участие в конкурса кандидатката е приложила 35 научни труда, от които 33 са отпечатани в реферирани и индексирани списания, а 2 са глави от книги. Представените трудове, 8 по показател В и 27, по показател Г, както и един регистриран полезен модел се приемат за рецензиране и отчитане при крайната оценка. Оценяват се и списъкът с цитати в реферирани и индексирани списания и колективни томове, непредставяни по други конкурси, както и участия в 17 научно-изследователски проекта. Не се рецензират общо 42 научни труда (представени в общ „Списък с публикации“), включени в дисертацията за **“Доктор”** и за придобиване на академичната длъжност **„Доцент“**. Разпределението на научните трудове в конкурса по съответните Q фактори е както следва: 11 в списания с Q1, 15 с Q2, 3 с Q3 и 4 с Q4. Представени са списъци и доказателствен материал за участия в научни форуми, изпълнение на договори с чуждестранни и национални фирми, специализации, научно-организационна, образователна и експертна дейност, отразяващи цялостната дейност на кандидатката.

2. Кратки биографични данни

Доц. Милена Попова е родена на 25.09.1974 г. в гр. Бяла, Русенска област. Средното си образование получава в Техникум по индустриална химия „Проф. Димитър Баларев“, гр. Русе. През 1998 г. завършва висшето си образование в Химическия факултет на Софийския университет като магистър по химия и физика, с професионална квалификация учител по химия и физика. Следващата година постъпва на работа в ИОХЦФ-БАН като химик, а през периода 2001 – 2014 г. заема последователно академичните длъжности научен сътрудник III ст. и главен асистент. През 2004 г. придобива образователната и научна степен **„Доктор“** в областта на фитохимични изследвания върху прополис. Хабилитира се през 2014 г. и от септември 2018 г. е ръководител на лаб. „Химия на природните вещества“. Провела е 4 специализации в чужбина, от които една дългосрочна (8 месеца) в Лаборатория по фармакогнозия и химия на природните вещества към Фармацевтичния факултет на Атинския университет, Гърция.

3. Обща характеристика на дейността на кандидата

Оценка на научната и научно-приложна дейност

Цялостната научно-изследователска дейност на кандидатката е в областта на обявения конкурс (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества). В конкурса за професор доц. Попова участва с 35 научни труда като: 32 са публикувани в списания с импакт фактор (Scopus и Web of Sciences), един – в международно специализирано списание и два – глави от книги. Общият импакт фактор е 59.412. По показател В са представени 8 публикации като съответстващия им брой точки е 149, при изискване 100. По показател Г общият брой точки от 25 публикации, две глави от книги и един полезен модел е 572, при изискване 250, по показател Д 2344 т. (изискуем минимум 200 т.) и по показател Е – 317 т. (изискуем минимум 150 т.). Общият брой точки по показатели значително надвишава изискуемия минимум за придобиване на научното звание професор. Всички научни трудове са на английски език и повечето от тях са публикувани в престижни списания като: Chem. Cent. J., Curr. Pharm. Biotechnol., PLoS One, RSC Advances, Phytochemistry, Food Chem. Toxicol и др. Личното участие на кандидатката в представената научна продукция е неоспоримо – в 8 публикации е първи автор, в 10 е втори, и на 2 - автор за кореспонденция.

Към научната продукция трябва да се отбележи и значителния брой участия в национални и международни форуми - общо 58. Изнесла е 2 пленарни доклада и една лекция във Виетнамската академия за наука и технологии в Ханой.

Научната дейност на доц. Попова е финансирана от 17 проекта: 9, по линия на ФНИ, МОН и 8 международни. Ръководител е на два национални проекта, като привлечените средства са 235 000 лв.

Високо оценявам участията на кандидатката в редица договори с чуждестранни и национални фирми, институции, университети и физически лица, което е показателно за практическото приложение на проведените изследвания, свързани с окачествяване на прополис.

Във връзка с изпълнение на проекти д-р Попова е провела четири специализации в чужбина: Институт по биомолекулярна химия, Неапол, Италия; Фармацевтичен факултет, Атински университет, Гърция; Университет „Св. Кирил и Методий“, Факултет по науки и математика, Скопие, Македония и Изследователска лаборатория към фирма “Phycosource”, Париж, Франция.

Оценка на учебно-педагогическа дейност

Доц. Попова е била научен консултант на докторска дисертация на тема: “Химичен състав и биологична активност на прополис от различни географски райони”, защитена успешно през 2006 г. от Боряна Трушева.

Кандидатката е участвала като научен ръководител и консултант в разработването на шест дипломни работи на студенти от Химическия факултет и Факултета по химия и фармация, СУ.

Приноси (научни, научно-приложни, приложни) и цитирания

Д-р Попова има ясно очертан профил на научно-изследователската си дейност. Съгласно представената авторска справка научните приноси от цялостната изследователска дейност са обобщени в две основни направления:

1. Изследвания на прополис от различни географски райони и видове пчели.
2. Проучвания на химичния състав и биологичната активност на лечебни растения.

Изследванията върху прополис имат най-голям дял в научната работа на доц. Попова. Те са свързани с изясняване на химичния състав, растителните източници и биологична активност на прополис от различни климатични и географски райони, както и видове пчели. Основна цел на фитохимичните изследвания е създаване на база данни с мас-спектри на изолирани съединения като триметилсилилови етери (дериватизирани

продукти), с оглед последваща дерепликация на вече познати типове прополис чрез ГХ/МС. Този метод основно е използван при анализите.

При проучване на прополис от райони с умерен климат (Европа, Северна Америка, Аржентина, Южна Африка, Азия и Нова Зеландия) е установено, че той се характеризира със сходен химичен състав, като основните му биологичноактивни компоненти са фенолни съединения (флавоноиди, фенолни киселини и техни естери), произхождащи от смолистите секрети на пъпките на видове тополи *Populus* spp. (Публ. №45(2В), 49(5Г), 54(9Г), 62(4В), 64(5В), 65(6В), 67(19Г)).

Изследвания върху химичния състав на български прополис показват, че е продукт с високо качество, съгласно нормативите, утвърдени от Международната комисия по меда. Предложените критерии могат да се използват като основа за стандартизацията му, с оглед въвеждане на научнообосновани ISO стандарти (Публ. № 4В).

Проведено е детайлно химично профилиране на прополис от Полша, проявяващ противотуморна и антимикробна активност. Съставът е анализиран чрез ГХ/МС метод, позволяващ надеждна дерепликация (№ 15Г). От идентифицираните над 80 компонента е установено, че пробата е тополов тип, с двоен растителен произход. Сред компонентите, характерните за *Populus nigra*, са пинобаксин 3-О-ацетат, фенетиллов и пентенилови естери на кафеената киселина. Наличието на глицеролови естери на фенолни киселини, заедно с относителното високо съдържание на *p*-кумарова киселина и нейни естери, са указание за намесата на *P. tremula* като растителен източник (№ 5В).

Проведено е проучване за евентуална връзка между химичния състав на прополиса и здравето на пчелните семейства по отношение заразяването с *V. destructor* (кърлеж, предизвикващ варооза при медоносната пчела *Apis mellifera*). Изследван е съставът на прополис, събран от пчелин близо до Авињон (Франция) от устойчиви и неустойчиви към *V. destructor* пчелни семейства, по отношение съдържанието на балсам (извлек със 70% етанол) и химичния им профил. Установено е, че прополисът от заразените кошери се характеризира с повишено съдържание на балсам. Идентифицирани са над 60 компонента, като количеството на кафеена киселина и нейни пентенилови естери е по-високо в прополиса от здравите колонии (№ 2В). Противоположен отговор се наблюдава при заразените пчелни семейства с бактерията *Paenibacillus larvae*, причиняваща заболяването американски гнилец. При анализ на прополис от здрави и заразени семейства се установява, че пробите от заразените колонии съдържат по-малко балсам, ферулова киселина и кониферил бензоат (№ 6В).

Разработен е ефикасен метод за приготвяне на водни колоидни разтвори на детайлно охарактеризиран тополов тип прополис от България чрез включването му в биосъвместими полимерни мицели. Установено е, че в среда от фосфатен буфер прополисът се освобождава на 100% в рамките на 52 часа. Новата мицеларна форма проявява силно цитотоксично действие върху левкемични клетки. Това е първото съобщение за включване на прополисов екстракт в полимерни мицели с потенциал за парентерално приложение във водна среда и за лечение на злокачествени заболявания (№ 9Г). Регистриран е полезен модел, чийто лиценз е предоставен на фирма „Органик БГ” ЕООД за срок до 30.09.2025. За първи път са получени модифицирани със сребро мезопорести силикатни материали, натоварени с прополис, които са потенциал на лекарство-доставящи системи. По този начин е повишена водоразтворимостта на прополиса и активността срещу *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* (№ 19Г).

Изследвана е активността срещу бактериалната комуникация (кворум-сенсинг) и съставът на 10 проби прополис от различни райони на Америка. Идентифицирани са над 60 вещества, водещи до разграничаването на три групи прополис. Едната група се отличава с относително високо съдържание на ароматни киселини (бензоена, канелена, *p*-кумарова и ферулова киселини) и естера бензил *p*-кумарат, което е характерно за тополов тип прополис, произхождащ от Северна Америка *P. tremuloides* (американска трепетлика). *P. fremontii* е определен като източник на проби с високо съдържание на флавоноиди и един

от източниците на проби от третата група. От проба от Северна Каролина (смесен тип прополис) са изолирани 4 компонента, от които нови за прополис са етилов етер на *p*-кумаровия алкохол и 6β -хидроксигетулонова киселина. За прополиса от *P. fremontii* и за флавоноида пиноцембрин е установена антикворум-сенсинг активност при *Cromobacterium violaceum* (5Г).

Проведени са изследвания на прополис от райони със субтропичен климат (Публ. № 51(3В), 52(7Г), 70 (22Г), 72(24Г)). Изследван е химичният състав, антиоксидантната и антимицробната активност на 32 проби от средиземноморския район: Гърция, Кипър, Хърватска и Алжир. Идентифицирани са над 150 съединения, характерни за средиземноморски дитерпенови и тополови тип прополиси. Основните и/или единствените компоненти за 15 от пробите са дитерпени, докато други, произхождащи от Централна и Северна Гърция, Алжир и Хърватска, съдържат придимно флавоноиди. В пет от пробите се доказват основно захари. Най-висока антибактериална активност, главно срещу *S. aureus*, *S. epidermis* и *S. mutans*, е установена за богати на дитерпени проби (№ 7Г).

Анализиран е химичният състав, антиоксидантната и хипогликемична активност на 5 проби прополис от северната и северозападната част на Мароко. Идентифицирани са над 60 съединения. Установено е, че три от пробите принадлежат към тополовия тип, в проба от северната част основните компоненти са дитерпени, а друга е смесен тип – тополов-средиземноморски. Дитерпени са намерени за първи път в прополис от Мароко. Установено е, че прополис, богат на фенолни киселини и флавоноиди, проявяват по-високо хипогликемично и антиоксидантно действие (№ 3В), докато проба, съдържаща повече захари, не проявява антиоксидантна и антимицробна активност (№ 24Г). За първи път е установено, че тополови тип прополиси повишава стабилността на водно-маслени емулсии (№ 22Г).

Изследванията върху прополис от райони с тропичен климат са отразени в публ. № 43(1В), 50(6Г), 53(8Г), 57(12Г), 59(14Г), 61(16Г), 63(17Г), 69(21Г), 74(26Г), 76(7В), 77(8В). За първи път е изследван прополис от Оман (Югозападна Азия). При ГХ/МС анализ на 8 проби е установен твърде разнообразен химичен състав, непринадлежащ към нито един от познатите типове прополис. Изолирани и идентифицирани са нови за прополис съединения като: 7-*O*-метил-8-пренилнарингенин и 3',8-дипренилнарингенин, както и един 8-пренил-5,7-дихидрокси-3'-(3-хидрокси-3-метилбутил)-4'-метоксифлаванон, определен по мас-спектрална фрагментация. Всички проби проявяват активност срещу *S. aureus* и *E. coli*, по-добре изразена от тази на българския прополис, като най-висока е на пробите, богати на пренилирани флаванони (№ 1В).

Проведен е химичен анализ на прополис от Тайланд (Югоизточна Азия), получен от *A. mellifera* и два вида безжилни пчели *Tetragonula laeviceps* и *Tetrigona melanoleuca*. За прополиса от медоносната пчела е установен сходен ГХ/МС профил, напълно различен от този от безжилните пчели. От проба, проявяваща висока антибактериална активност, са изолирани са 5 циклоартанови тритерпена, както и смеси от анакардиеви киселини, кардоли и карданоли (№ 17Г). За прополис от безжилните пчели *T. laeviceps* също е установен сходен химичен състав, но различен от този от *T. melanoleuca*. Шест нови за прополис пренилирани ксантона, заедно с дамаранов тип тритерпен и фуурофуранов лигнан, са изолирани от *T. laeviceps* прополис, а от *T. melanoleuca* - 8 тритерпена и 4 хидрокситритерпенови киселини, идентифицирани по МС фрагментация. Това е първото съобщение за изолиране на ксантони от прополис и първото за прополис от *T. melanoleuca*. (№ 6Г).

За първи път е изследван прополис от безжилните пчели *Lisotrigona cacciae*. От прополис от Виетнам са изолирани 18 съединения (феноли и тритерпени), включително смес от резорциноли, като 6 (флаван, хомоизофлаван и *O*-геранил ксантони) са нови за прополис. Чрез използване на изолираните съединения като стандарти и база данни, са идентифицирани 33 съединения като триметилсилилови етери. За ксантона α -мангостин и флавана 7,4'-дихидрокси-5-метокси-8-метилфлаван е установена висока активност срещу

S. aureus, докато хомоизофлаван 10,11-дихидроксидрасаенон е единственият проявяващ радикал-улавящо действие (**№ 8В**).

За прополис от острови Фиджи е установен ГХ/МС профил, сходен с този за прополис от Тихоокеанския район. Изолирани са 6 компонента: 2 новооткрити сескитерпенил стилбена, 2 пренилирани флавонола (единият е нов за прополис), флавонол и тритерпенова киселина (**№ 8Г**). От прополисов екстракт от о-в Питкърн, проявяващ антимикробна и потенциална цитотоксична активност, са изолирани 4 нови тритерпена (хидрокси и ацетокси производни на циклоартенона), заедно със 17 познати съединения. За новите компоненти е установена антимикробна активност срещу *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* (**№ 21Г**).

Изследван е химичният състав на прополис от Камерун. Изолирани са 7 тритерпена, два от които новооткрити природни съединения са: метилов естер на 3 β ,27-дихидроксициклоарт-24-ен-26-ова киселина и ейкозанилов етер на глицерола (**№ 14Г**). От ацетонов екстракт на проба от северозападната част на Африка, проявяващ противоязвена активност, са изолирани познати тритерпени и естер на мастна киселина (**№12Г**).

Анализиран е химичният състав на прополис от различни райони на Колумбия. Установено е, че високото съдържание на бензофенони, основно неморозон, е свързано с по-висока радикал-свързваща активност и цитотоксично действие срещу остеосаркомни клетки (**№ 26Г**). От проба от Вал са изолирани са 3 производни на δ -токотриенола, два от които са новооткрити природни съединения (5,6-диоксо- и 5-хидрокси-8 β -оксо гарцинови киселини), а едно е ново за прополис – гарцинова киселина (*транс*-13'-карбокси- δ -токотриенол). Веществата принадлежат към рядък клас съединения и са първите представители на токотриеноли, с окислена странична верига. Изолираните съединения както и етанолният екстракт проявяват висока активност срещу *S. aureus* и *C. albicans* (**№ 7В**).

Проведено е изследване на химичния състав на етерично масло от два типа прополис: бразилски червен (източник *Dalbergia ecastophyllum*) и тайвански зелен (*Macaranga tanarius*). Установено е, че основните компоненти в червения прополис са фенилпропаноиди, докато в зеления – окислени сескитерпени, алифатни алкохоли, алдехиди, кетони и въглеводороди. Това е първото съобщение за етерично-масления състав на тайвански зелен прополис (**№ 16Г**).

Обобщени данни за прополис са представени в обзорни работи, публикувани в научни списания и книги (Публ. № 44 (**1Г**), 47(**3Г**), 55 (**10Г**), 56 (**11Г**), 60(**15Г**), 71(**23Г**), 73(**25Г**)).

Друго направление, в което работи д-р Попова, е проучване на химичния състав и биологичната активност на четири растителни вида: *Apium graveolens*, *A. nodiflorum* (Публ. № 46 (**2Г**), 48(**4Г**)), *Verbascum eriophorum*, *V. nobile* (Публ. № 58(**13Г**)), 68(**20Г**)) и *Geum urbanum* 66(**18Г**), 75(**27Г**)).

От корени на *A. graveolens* са изолирани и идентифицирани чрез ГХ/МС и/или ЯМР фталиди, алилфеноксиацетат, мастни киселини, въглеводороди и кумарини, като 6-(3'-метил-1'-оксобутил)-7-хидрокси кумарин е новооткрито природно съединение. Изследвано е общото фенолно и флавоноидно съдържание в екстракти от листа и корени от целина, събрана от 19 места в България, включително от някои диворастващи *A. nodiflorum* (**№ 2Г**). За метанолен екстракт от *A. nodiflorum* е установено, че потиска развитието на експериментална остеопороза при плъхове (**№ 4Г**).

Анализиран е химичният състав на диворастващи и генетично трансформирани коренови култури от *V. eriophorum* чрез ЯМР метаболомни изследвания и приложени хемометрични методи. Иридоидни гликозиди (харпагозид, аукубин и негови производни) са намерени само в листа на диворастващия вид, докато в *in vitro* културите са открити предимно фенилетаноидни гликозиди, основният от които е вербаскозид (**№ 13Г**). От

надземните части на *V. nobile* са изолирани 2 новооткрити иридоидни гликозида (*E*)- и (*Z*) *p*-кумароил-3"-ментиафолоил-рамнопиранозилкатапол, заедно с 9 известни компонента. Установено е, че новите вещества имат потенциал за регулиране на повишена Т-клетъчна активация, характерна за някои болестни състояния, като напр. артрит (№ 20Г).

С цел определяне на връзката между химичен състав-биологична активност (антимикробна и антирадикалова) е проведен анализ на екстракти от корени и надземни части на *G. urbanum*. От етилацетатния екстракт на корените, проявяващ най-висока антимикробна (главно срещу грам(+) бактерии) и радикал-свързваща активност, са изолирани 7 вещества, от които две са нови за рода, а други три – нови за вида. За флавана катехин е установена висока активност срещу *S. aureus* и *C. albicans* (№ 18Г), а за етилацетатния екстракт – антикворум-сенсинг потенциал при *Pseudomonas aeruginosa* (№ 27Г).

Резултатите от научно-изследователската дейност на кандидатката са намерили съществен положителен отклик сред колегията от специалисти в областта. Общият брой на забелязаните **цитирания** (след конкурса за доцент) е значителен – 1529 цитата от които: 1172 – в реферирани и индексирани списания и колективни томове (съгласно Web of Science и/или Scopus), 224 – в нереперирани списания и книги и 133 – в дисертации. Тези данни несъмнено са доказателство за високата научната стойност на публикуваните резултати.

Внедрителска дейност

В колаборация с Институт по полимери – БАН е регистриран полезен модел „Състав на водоразтворима форма на прополис”, свидетелство № 2260 от 07.09.2016 г. Лицензията е предоставена на фирма „Органик БГ”ЕООД до 30.09.2025.

Научно-организационна и експертна дейност

Д-р Попова е член на редакционната колегия на Austin Journal of Bioorganic and Organic Chemistry и гост-редактор на Natural Product Communication (специална книжка). През 2015 г. получава награда в колектив – трофей „СИБ ИТИ’2015 за разработката „Състав на водоразтворима форма на прополис“.

Експертна й дейност е свързана предимно с рецензиране на публикации за редица международни списания. Участвала е в комисия за присъждане на образователната и научна степен “Доктор” на редовен докторант Светослав Александров, ИФРГ-БАН.

4. Оценка на личния принос на кандидата

Безспорен е личният принос на д-р Попова в представената научна продукция. Тя представя доказано признати оригинални и значителни научни приноси, най-вече в областта на химията на природните съединения, като теоретичните разработки имат практическа приложимост.

5. Критични забележки и препоръки

По същество нямам критични забележки. Препоръките ми са да разшири и предаде натрупания опит и знания в обучението на повече студенти и докторанти.

6. Лични впечатления

Моите лични впечатления от кандидатката са, че тя е опитен и ерудиран изследовател, с идеи и перспектива за развитие, с широк спектър от интереси и висока компетентност в областта на фитохимията на природните съединения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Единствената кандидатка в конкурса за ПРОФЕСОР, обявен за нуждите на лабораторията по Химия на природните вещества към Института по органична химия с Център по Фитохимия-БАН, участва убедително в конкурса с напълно достатъчна научна и научно-приложна продукция, както и с цялостната си изследователска и експертна дейност. Без съмнение постигнатите от д-р Милена Попова резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на Правилник на ИОХЦФ-БАН за приложение на ЗРАСРБ. Доц. Попова е специалист с ясно очертан научен профил. Безспорно високата квалификация и изследователска активност се потвърждава от участието ѝ в голям брой научни изследвания и научни проекти с интердисциплинарен характер.

Анализът на представените научни трудове, техните научни и научно-приложни принос и научни изяви, както и личните качества на кандидатката ми дават основание убедено да препоръчам на членовете на Уважаемото Научно жури да гласуват положително за избора на доц. д-р Милена Петкова Попова на академичната длъжност „Професор“ в ИОХЦФ-БАН по професионално направление 4.2 Химически науки, научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“.

9.09. 2019 г.

Рецензент:

/проф. д-р И. Кръстева/