

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 диворастящи *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 диворастящи 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 диворастящия 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/

REVIEW

by PhD Iliana Nikolaeva Krasteva – professor
of the materials, presented for participation in a competition
to occupy the academic position of „Professor”
at the Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry (IOCCP), BAS,
in higher education area 4. Natural Sciences, Mathematics and Informatics, professional
field 4.2 Chemical Sciences, scientific specialty Bioorganic Chemistry, Chemistry of Natural and
Physiologically Active Compounds

in the competition for the academic position "Professor", announced in The State Gazette,
issue 43 of May 31, 2019 and on the website of IOCCP, BAS, for the needs of Lab. "Chemistry
of Natural Compounds" as a sole candidate, participates:

Assoc. Prof. Dr. Milena Petkova Popova
from the Laboratory of Chemistry of Natural Compounds, IOCCP, BAS.

1. General presentation of the received materials

The set of materials presented in paper and electronic form, presented by Assoc. Prof. Milena Popova, is in accordance with the Regulations of the Development of the Academic staff of the Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences (IOCCP-BAS), and meets the criteria of the Institute for occupying the academic position "professor".

In order to participate in the competition, the candidate assoc. prof. Popova applied 35 scientific works, 33 of which were printed in refereed and indexed journals, and 2 were book chapters. The submitted works, 8 on indicator B and 27, on indicator G, as well as one registered utility model are accepted for review and reporting in the final evaluation. The list of citations in refereed and indexed journals and collective volumes not presented in other competitions, as well as participation in 17 research projects are also evaluated. A total of 42 scientific papers (presented in the general "List of publications") included in the dissertation for "Doctor" and for the acquisition of the academic position "Associate Professor" are not reviewed. The distribution of scientific papers in the competition according to the relevant Q factors is as follows: 11 in journals with Q1, 15 with Q2, 3 with Q3 and 4 with Q4. Lists and supporting documents for participation in scientific forums, implementation of contracts with foreign and national companies, specializations, scientific-organizational, educational and expert activity, reflecting the overall activity of the candidate, are presented.

2. Brief biographical information

Assoc. prof. Milena Popova was born on September 25, 1974 in Byala, Ruse District. She received her secondary education at the School of Industrial Chemistry "Prof. Dimitar Balarev", Ruse. In 1998 she completed her higher education at the Faculty of Chemistry at Sofia University as a Master of Chemistry and Physics, with a professional qualification as a teacher of chemistry and physics. The following year, she joined the IOCCP -BAS as a chemist, and in the period 2001 - 2014 she held consecutive academic positions as a research associate III degree, senior and chief assistant professor. In 2004, she obtained her PhD in Phytochemical Research on Propolis. She habilitated in 2014, and since September 2018 has been head of the Lab.

"Chemistry of Natural Compounds". She has conducted 4 specializations abroad, one of which is long-term (8 months) in the Laboratory of Pharmacognosy and Chemistry of Natural Substances at the Faculty of Pharmacy, University of Athens, Greece.

3. General characteristics of the candidate's activity

Evaluation of scientific and scientifically applied activities

The applicant's overall research activity is in the field of the announced competition (Bioorganic chemistry, chemistry of natural and physiologically active substances). In the competition for "Professor" assoc. prof. Popova participates with 35 scientific works, as follows: 32 have been published in journals with Impact Factor (Scopus and Web of Sciences), one in an internationally specialised journal and two in book chapters. The total impact factor is 59.412. Eight items are presented under Indicator C, with the corresponding number of points being 149, with a requirement of 100. Under Indicator D, the total number of points from 25 publications, two book chapters and one utility model is 572 (with a requirement of 250), under Indicator E 2344 (required minimum 200) and Indicator F – 317 (required minimum 150). The total score on the indicators significantly exceeds the required minimum for obtaining the scientific title of professor. All scientific papers are in English and most of them have been published in prestigious journals such as: Chem. Cent. J., Curr. Pharm. Biotechnol., PLoS One, RSC Advances, Micropor. Mesopor. Mat., Phytochemistry, Food Chem. Toxicol., etc. The personal participation of the candidate in the submitted scientific production is indisputable – in 8 publications she is the first author, in 10 is the second author, and in 2 – the author for correspondence.

Significant participation in national and international fora should be noted in scientific output - a total of 58. She has presented 2 plenary lectures and a lecture at the Vietnam Academy of Science and Technology in Hanoi, and the rest with posters.

The research activity of Assoc. Prof. Popova was funded by 17 projects: 9, under the auspices of the NSF, MES and 8 international ones. She was the manager of two national projects, with the raised funds being 235 000 BGN.

Participations in a number of contracts with foreign and national companies, institutions, universities and individuals are highly appreciated, which is indicative of the practical application of the studies conducted on the qualification of propolis.

In connection with the implementation of projects Dr. Popova has conducted four specializations abroad: Institute of Biomolecular Chemistry, Naples, Italy; Faculty of Pharmacy, University of Athens, Greece; University "St. Cyril and Methodius", Faculty of Science and Mathematics, Skopje, Macedonia and Research Laboratory at Phycosource, Paris, France.

Evaluation of educational and pedagogical activity

Assoc. prof. Popova was a scientific advisor to a doctoral dissertation on the topic: "Chemical composition and biological activity of propolis from different geographical regions", successfully defended in 2006 by Boryana Trusheva.

The candidate has participated as a scientific adviser and consultant in the development of six diploma works of students from the Faculty of Chemistry and the Faculty of Chemistry and Pharmacy, Sofia University.

Contributions (scientific and/or applied) and citations

Dr. Popova has a clearly outlined profile of her research activities. According to presented author's inquiry, the scientific contributions from the overall research studies are summarized in two main directions:

1. Investigation of propolis from different geographic regions and bee species.
2. Investigation of the chemical composition and biological activity of medicinal plants.

Propolis analysis is the main part of the scientific work of Assoc. Prof. Popova. They are related to clarifying the chemical composition, plant sources and biological activity of propolis from different temperate and geographic zones and bee species. The main purpose of the phytochemical research is the attempt to create a database of mass spectra of isolated compounds as trimethylsilyl ethers (derivatized products) with a view to further dereplication of already known propolis types by GC/MS, a method mainly used in analyses.

The research of propolis from temperate regions (Europe, North America, Argentina, Southern Africa, Asia and New Zealand) determined that it is characterised by similar chemical composition with main biologically active components being phenolics (flavonoids, phenolic acids and their esters) originating from the resinous buds secretions of *Populus* spp. (Publ.№ **45**, **49**, **54**, **62**, **64**, **65**, **67**).

Studies on the chemical composition of Bulgarian propolis show that it is a high quality product, according to the standards approved by the International Honey Commission. The criteria proposed can be used for the standardization of Bulgarian propolis with a view to introducing of reliable and scientifically based ISO standards (№ **62**).

A detailed chemical profiling of propolis from Poland, exhibiting antitumor and antimicrobial activity, was performed. The chemical composition was analysed by GC/MS (after derivatization) allowing rapid and reliable dereplication (№ **60**). More than 80 compounds were identified and it was found that the sample is a poplar type propolis of dual botanical origin. Components typical for *P. nigra* were revealed, amongst which pinobanksin 3-*O*-acetate, phenethyl and pentenyl esters of caffeic acid. The presence of glycerol esters of phenolic acids, together with the relatively high content of *p*-coumaric acid and its esters provides an evidence for the contribution of aspen *P. tremula* L. as a second plant source (№ **64**).

A study was conducted on a possible relationship between both propolis chemistry and bee colony health in respect to *V. destructor* infection (a mite causing varroosis in the honeybee *Apis mellifera* L. The chemical composition of propolis harvested in an apiary near Avignon, France, of resistant and non-resistant to *V. destructor* bee families regarding the balsam content and chemical profile was investigated. It was found that the propolis of infected hives was characterized by an increased content of balsam. Over 60 components were identified and the content of caffeic acid and its pentenyl esters was higher in the samples of healthy colonies (№ **45**). However, no such response was observed in the colonies infected by the spore-forming bacteria *Paenibacillus larvae*, causing the disease American foulbrood. Propolis samples from healthy and infected families were analysed. The samples from the infected colonies were characterized by reduced content of balsam as well as lower content of ferulic acid and coniferyl benzoate (№ **65**).

An efficient approach for preparation of aqueous colloidal solution of a well-characterised poplar type propolis (from Bulgaria) by encapsulation within copolymeric micelles was developed. *In vitro* propolis release of 100% at the end of the 52th hour was observed. The novel micellar form exhibited *in vitro* high cytotoxicity on leukemic cells. This is the first study on

novel delivery system based on copolymeric micelles encapsulating the full spectrum of propolis components with potential for parenteral administration in aqueous media and cancer therapies (№ 54). A utility model was registered, the license of which has been granted to "Organik BG" Ltd. with a term of 30.09.2025. For the first time, silver modified nanoporous silica materials as a novel delivery system of propolis were prepared. The resulting materials improved the water solubility of the propolis and the activity against *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans* (№ 67).

The quorum sensing inhibitory activity and the chemical composition of 10 propolis samples from different regions of America were studied. More than 60 components were identified by GC/MS that led to classification of the samples into three groups. One group was characterised by a relatively high content of aromatic acids (benzoic, cinnamic, *p*-coumaric and ferulic acids) and benzyl *p*-coumarate, typical for the poplar propolis originating from *P. tremuloides* (American aspen). *P. fremontii* was identified as the most probable source of the samples with high flavonoid content, and one of the sources of propolis from the third group. From a sample of North Carolina (a mixed propolis type) four compounds were isolated, from which new for propolis were ethyl ether of *p*-coumaric alcohol and 6 β -hydroxy betulonic acid. For the samples of *P. fremontii* as well as for flavonoid pinocembrin, quorum sensing inhibitory activity was found against *Cromobacterium violaceum* (№ 49).

Studies of propolis **from subtropical climatic regions** have been conducted (Publ. №51, 52, 70, 72). Thirty two propolis samples from Greece, Cyprus, Croatia and Algeria were analysed in respect to their chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity. More than 150 components were identified, amongst which markers for *C. sempervirens* and *P. nigra*. The main and/or the only components in 15 of the samples were diterpenes, whereas other, collected from Central and Northern Greece, Algeria and Croatia were characterised by the presence of flavonoids and phenolic acids esters. Sugars were the main components found for five of the samples. The highest antibacterial activity against *S. aureus*, *S. epidermis* and *S. mutans* was established for diterpene-rich samples (№ 52).

The chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activity of 5 samples propolis from North and Northwest Morocco were analysed. Over sixty individual compounds were identified. Two of the samples belong to the poplar propolis type and other was of a mixed propolis type, poplar - Mediterranean. Diterpenes were found in Moroccan propolis for the first time. The samples rich in phenolic acids and flavonoids exhibited higher hypoglycaemic and antioxidant activity (№ 51), while sample with lower content of secondary metabolites (rich in sugars) did not display antioxidant or antibacterial activity (№ 72). For the first time, poplar type propolis was found to enhance the oxidative stability of oil/water emulsions (№ 70).

The investigations of the Propolis **from tropical regions are presented** in publications №43, 50, 53, 57, 59, 61, 63, 69, 74, 76 and 77. Propolis from Oman (Southwest Asia) was studied for the first time. The GC/MS profiling of 8 samples revealed that the Omani propolis is different from the known propolis types and demonstrates significant chemical diversity. New for the propolis compounds were isolated and identified such as: 7-*O*-methyl-8-prenylnaringenin and 3',8-diprenylnaringenin and on 8-prenyl-5,7-dihydroxy-3'-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-4-methoxy flavanone, identified by mass spectral fragmentation. The samples analyzed showed activity against *S. aureus* and *E. coli* higher than that of Bulgarian propolis. The highest activity was demonstrated from samples rich in prenylated flavanones (№ 43).

A chemical analysis of propolis by from Thailand, Southeast Asia, obtained from *A. mellifera* and two stingless bee species *Tetragonula laeviceps* and *Tetragonula melanoleuca* was performed. Propolis from the honey bees displayed similar GC/MS profile, but completely

different from that of the stingless bees. From one of the samples, exhibiting high antibacterial activity, 5 cycloartane triterpenes, along with mixtures of anacardic acids, cardanols and cardols were isolated (№ 63). A similar chemical composition was established for propolis from *T. laeviceps*, but different from that of *T. melanoleuca*. Six prenylated xanthenes, along with dammarane type triterpene and furofuran lignan were isolated from *T. laeviceps* propolis. Eight triterpenes were isolated from propolis of *T. melanoleuca*, along with 4 hydroxytriterpenic acids identified by mass spectral fragmentation. Most of the compounds were new for propolis. This was the first report for isolation of xanthenes from propolis and the first study of propolis from *T. melanoleuca*.

A propolis from the stingless bee *Lisotrigona cacciae* was studied for the first time. From a propolis sample of Vietnamese *L. cacciae* 18 compounds (phenols and triterpenes), including a mixture of resorcinols were isolated and identified. Six of them (flavane, homoisoflavanes and *O*-geranyl xanthenes) were new propolis compounds. By using the isolated compounds as reference substances as well as literature data, detailed identification of 33 components as trimethylsilyl ethers was achieved. The xanthone α -mangostin and flavane 7,4'-dihydroxy-5-methoxy-8-methylflavane inhibited *S. aureus*, while homoisoflavane 10,11-dihydroxydracaenone was the only one displaying antiradical ability (№ 77).

For propolis from Fiji islands, a GC/MS profile similar to that of propolis from the Pacific region was found. Six components were isolated: 2 new for propolis sesquiterpenyl stilbenes, 2 prenylated flavonols, one of which new for propolis, flavonol and triterpenic acid (№ 53). Four new cycloartane triterpenes (hydroxy and acetoxy cycloartenones), along with 17 known compounds were isolated from extract of Pitcairn propolis exhibiting antimicrobial and potential cytotoxic activity. For the new triterpenes, activity against *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans* was detected (№ 69).

The chemical composition of propolis from Cameroon was analysed. Seven triterpenes were isolated, incl. new natural compounds methyl-3 β ,27-dihydroxycycloart-24-en-26-oate and 1'-*O*-eicosanyl glycerol (№ 59). Known triterpenes and a fatty acid ester were obtained from acetone extract of a sample from North-West region exhibiting anti-ulcer activity (№ 57).

The chemical composition of propolis from different regions of Colombia was analysed. The high relative content of benzophenones, mainly nemorosone, resulted in higher antiradical activity and cytotoxic action against osteosarcoma cells (№ 74). From a sample from Val three δ -tocotrienols were isolated: 2 new natural compounds (5,6-dioxo garcinoic acid and 5-hydroxy-8b-oxo garcinoic acid), along with known derivative garcinoic acid (*trans*-13'-carboxy- δ -tocotrienol). All three derivatives belong to a rare class of compounds and are the first representatives of tocotrienols with oxidized terminal chain found in propolis. The isolated compounds as well as the crude ethanol extract demonstrated high activity against *S. aureus* and *C. albicans* (№ 76).

Essential oils' chemical characterization of two distinct propolis types, Brazilian red (plant source *Dalbergia ecastophyllum*) and Taiwanese green (*Macaranga tanarius*) propolis was performed. It was found that the main essential oils' components of the red propolis were phenylpropanoids, whereas in the green one oxidised sesquiterpenes, aliphatic alcohols, aldehydes, ketones, and hydrocarbons were characterised. This was the first report on the essential oil composition of Taiwanese green propolis (№ 61).

An overview of data on propolis is presented in review articles published in scientific journals and books (Publ. № 44, 47, 55, 56, 60, 71, 73).

Another area in which Dr. Popova works is investigation of chemical composition and biological activity of four plants: *Apium graveolens*, *A. nodiflorum* (Publ. № 46, 48), *Verbascum eriophorum*, *V. nobile* (Publ. № 58, 68) and *Geum urbanum* (Publ. № 66, 75). From root extract of *A. graveolens* phthalides, allylphenoxyacetate, fatty acids, hydrocarbons, and coumarins, one of which 6-(3'-methyl-1'-oxobutyl)-7-hydroxycoumarin is a new natural compound, were isolated and identified by GC/MS and/or NMR. Total phenolic and total flavonoid content in celery leaves and roots collected from 19 locations in Bulgaria, including some wild-growing *A. nodiflorum*, were also analysed (№ 46). For methanol extract of *A. nodiflorum*, inhibition of the development of experimental osteoporosis in rats was found (№ 48).

The metabolic differences between wild plant and hairy root cultures of *V. eriophorum* were studied by NMR metabolomic and chemometric tools. Iridoid glycosides (harpagoside, aucubin and its derivatives) were observed only in the wild plant, whereas the *in vitro* cultures were found to be rich in phenylethanoid glycosides (№ 58). Two novel iridoid glycosides (*E*)- and (*Z*)-*p*-coumaroyl-3"-menthiafoloyl-rhamnopyranosylcatalopol, along with 9 known components were isolated. It has been found that the novel components have the potential to regulate the increased T cell activation characteristic for some pathology, such as arthritis (№ 68).

The first study on the chemical composition-biological (antimicrobial and anti-radical) activity of root and areal parts of *G. urbanum* L. was performed. From the ethyl acetate extract of roots, exhibiting the highest antimicrobial (against Gram (+) bacteria) and anti-radical activity, 7 components were isolated, among which two were found for the first time in the genus *Geum*, and three others - were newly detected for the species. For the flavane catechin, high activity against *S. aureus* and *C. albicans* (№ 66) was found, along with quorums sensing inhibitory potential against *Pseudomonas aeruginosa* for the root ethyl acetate extract (№ 75).

The results of the applicant's research activities have found a significant positive response among the Collegium of specialists in the field. The total number of **citations** (after the competition for Assoc. Prof.) is significant – 1529 citations of which: 1172 – in refereed and indexed journals and collective volumes (Web of Science and/or Scopus), 224 – in non-refereed journals and books and 133 – in dissertations. This data is admittedly evidence of the high scientific value of the published results.

Implementation activities

In collaboration with the Institute of Polymers - BAS, a utility model "Composition of water-soluble form of propolis" was registered, certificate № 2260 dated 07.09.2016. The license was granted to Organic BG EOOD until 30.09.2025.

Scientific, organisational and expert activity

Dr. Popova is a member of the editorial board of the Austin Journal of Bioorganic and Organic Chemistry and a guest editor of Natural Product Communication. In 2015, she received a team award – “SIB ITI 2015” trophy for the development of “Propolis Water Soluble Composition”.

Her expertise is mainly related to peer review of publications in a number of international journals. She has participated in a committee for awarding the educational and scientific degree "doctor" to doctoral student Svetoslav Alexandrov, Institute of Plant Physiology and Genetics – BAS.

4. Assessment of the applicant's personal contribution

The personal contribution of Dr. Popova in the presented scientific production is undeniable. It presents proven, original and significant scientific contributions, especially in the field of chemistry of natural compounds, with theoretical developments being of practical use.

5. Critical remarks and recommendations

In essence, I have no critical remarks. My recommendations to Assoc. prof. Popova are to expand and share her experience and knowledge by teaching more students and PhD students.

6. Personal impressions

My personal impressions of the candidate are that she is an experienced and knowledgeable researcher, with ideas and prospects for development, with a wide range of interests and high competence in the field of phytochemistry and chemistry of natural compounds.

CONCLUSION

The only candidate in the PROFESSOR competition announced for the needs of the lab. "Chemistry of Natural Compounds" of the Institute of Organic Chemistry with the Center of Phytochemistry, BAS, participates in the competition convincingly with sufficient scientific and scientific-applied production, as well as with its entire research and expert activity. Undoubtedly, the results achieved by assoc. prof. Milena Popova are in full compliance with the specific requirements of the IOCCP -BAS and the implementation of the Regulations of the Development of the Academic staff.

Dr. Popova is a specialist with a clear scientific profile. The high qualification and research activity is undoubtedly confirmed by her participation in a large number of interdisciplinary research and scientific projects.

The analysis of the submitted scientific papers, their scientific and applied scientific contributions and scientific appearances, as well as the personal qualities of the candidate give me reason to persuade the members of the Distinguished Scientific Jury to vote positively for the election of assoc. prof. Dr. Milena Petkova Popova for the academic position of "Professor" at IOCCP-BAS in the professional field 4.2 Chemical Sciences, scientific specialty "Bioorganic chemistry, chemistry of natural and physiologically active compounds".

9 September 2019

Reviewer:

/Prof. Dr. I. Krasteva/