

СТАНОВИЩЕ

от д-р Мария Проконова Генева – доцент в ИФРГ-БАН

на материалите, представени за участие в конкурс

за заемане на академичната длъжност ‘доцент’

в Институт по Органична химия с Център по Фитохимия (ИОХЦФ), БАН

по професионално направление 4.2.Химически науки,

научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“

За участие в обявения конкурс в ДВ бр. 43 от 31.05.2019 г. и в интернет-страница на ИОХЦФ, БАН, за доцент за нуждите на лаборатория „Химия на природните вещества“ е подал документи само един кандидат: гл. ас. д-р Калина Монева Данова от ИОХЦФ-БАН. Представеният от гл. ас. д-р Данова комплект материали отговаря напълно на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИОХЦФ-БАН за заемане на академичната длъжност „доцент“.

Научните публикации на гл. ас. д-р Данова, представени за участие в конкурса са в областта на създаване на протокол за ин витро размножаване на (*Hippophae rhamnoides* L., избрани видове от Род *Hypericum*, *Artemisia alba* Turra), като е проследено влиянието на използваните растежни регулатори върху качествения и количествен състав на етеричните масла и някои физиологични показатели. Целта на проведените изследвания е контролираното отглеждане на медицински и ароматни растения с дефинирани свойства. Кандидатката е приложила 7 научни публикации в група В - издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация, в които кандидата е посочен като автор за кореспонденция и се приравняват за хабилитационен труд. От тях 2 публикации са с Q1, 1 с Q2, 4 с Q3 фактори. В група Г кандидатката е приложила 14 научни публикации в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация, извън хабилитационния труд. Разпределението на научните трудове по съответните Q фактори е - 3 публикации са с Q1, 4 с Q2, 1 с Q3 и 3 Q4, както и 3 глави от книги (в тях кандидатката е самостоятелен автор). Представени са още: списък със 112 цитирания в научни издания, монографии и колективни томовете, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация; списък и абстракти от участията на кандидатката в 98 Научни форуми; списък с участието ѝ в 14 Научно-изследователски проекти. Всичко това е добър индикатор за качеството на научната продукция на кандидатката.

Гл. ас. д-р Данова през 2000 г. завършва магистърска степен във Фармацевтичен Факултет, Медицински Университет, София със защитена дипломна работа в областта на фитохимията. През 2010 година успешно защитава дисертационен труд в областта на Растителната биотехнология и физиология на растенията в БФ, СУ „Св. Кл. Охридски“. През 2010 г. започва работа като химик в ИОХЦФ, БАН, а от 2011 година е гл. асистент.

Считам, че научните интереси на гл. ас. д-р Калина Данова са посветени на много актуална и значима област. Изследванията ѝ са насочени към подбор на растежни регулатори и концентрация добавени към хранителната среда за получаване на оптимален протокол за ин витро размножаване на изследваните медицински и ароматни растения - *Hippophae rhamnoides* L., Род *Hypericum*, *Artemisia alba* Turra и влияние върху качествения и количествен състав на фитохимични вещества (етеричните масла и фенолни съединения) както и върху някои физиологични параметри.

Безспорен успех на гл. ас. д-р Данова са многогодишните ѝ усилия за създаване и охарактеризиране на протокол за ин витро размножаване на *Artemisia alba* Turra (бял пелин). В своите проучвания е установила, че морфологичното развитие на растенията, обословено от добавянето на растежните регулатори (ауксин - 0,5 и 1,0 mg L⁻¹ индол-3-маслена киселина (IBA) и цитокинин 0,2 mg L⁻¹ 6-бензиладенин (BA)) в хранителната среда на MS, влияе върху терпеноидния биосинтетичен път, концентрацията на полифеноли и флавоноиди и фотосинтетичните параметри. Самостоятелното прилагане на IBA провокира развитието на кореновата система спрямо надземната част, свързано с увеличена биосинтезата на окислените монотерпени, намалена концентрация на полифеноли и флавоноиди, докато тилакоидната макроорганизация не се променя. Комбинираното добавяне на IBA и BA води до липса на кореново образуване, формиране на калус и повишаване на сескитерпените в маслата, спадане на съдържанието на биоактивни форми на ендеогенни цитокинини; нарушение на структурната организация на фотосинтетичния апарат и архитектурата на хлоропластите, увеличаване на съдържанието на феноли и флавоноиди. Идентифицирайки сескитерпените е установила наличие на различни сескитерпени в надземните и подземните части на растенията.

В надземните части на *A. alba*, за първи път са идентифицирани десет нови сескитерпенови алкохола, от които седем гермакрана, еудесман, гуаян и оплопан, както и фенолните съединения хиспидулин, жсеозидин, десметоксицентауреидин и дикафеоилови естери на хининова киселина. Установено е, че екстрактът от цветовете е богат на общи феноли и флавоноиди и притежава висока антиоксидантна активност. В растителните проби събрани от Балканския полуостров се откриват флаволи и флавоноли за разлика от тези от средиземноморските страни, които съдържат само флавоноли.

Кандидатката е провела ценни проучвания върху флавоноидното съдържание в *Hippophae rhamnoides* L. (облепиха). Установеното от нея богатото съдържание на флавоноиди в листата на облепиха (по-високи стойности в пробите, събрани от естественото местообитание край Варна, в сравнение в пробата от колекцията на Ботаническата градина) прави растението с потенциално високата фармакологична стойност и благоприятно за отглеждането му в България. Друг важен принос на кандидатката е определяне на най-добрата среда за индукция на аксиларна пъпка от *H. rhamnoides* L. – добавяне на 0,2 и 0,3 mg L⁻¹ ВА в ¼ хранителна среда MS.

Важна част от изследванията проведени от кандидатката са посветени на Род *Hypericum* (кантарион). Проследила е връзката между антиоксидантната ензимна и неензимна активност и полифенолното съдържание на ин витро размножения хиперицин непроеждащ *H. calycinum*. Установила е, че в хиперицин непроеждащия *H. calycinum* съдържанието на полифенолни съединения е по-високо в сравнение с това при хиперицин произвеждащите видове *H. tetrapterum*, *H. rumeliacum* и *H. richeri*. При оценката на NO-антирадикаловата активност в хиперицин продуциращите видове е измерена по-ниска активността в *H. tetrapterum* в сравнение с останалите два вида, принадлежащи към еволюционно по-развитата секция *Drosocarpium*.

В изследванията си гл. ас. д-р Данова е сравнила ефекта на витамините в средите на Gamborg и MS върху развитието, ензимната и неензимната антиоксидантна защита на хиперицин произвеждащите *H. rumeliacum* и *H. tetrapterum* и хиперицин непроеждащия *H. calycinum*. Установила е че, витамините на Gamborg средата в по-голяма степен повишават нивата на хиперицин, MDA и H₂O₂ в *H. rumeliacum* и *H. tetrapterum* в сравнение с витамините на MS. Тя изказва хипотезата, че увеличаването на съдържанието на хиперицин и стрес маркерите MDA и H₂O₂ може да е свързано с физиологичния стрес на който са подложени растенията при ин витро размножаването. От друга страна високото съдържание на хиперицин може би придиизвиква допълнителен окислителен стрес. От това тя предполага, че хиперицина играе роля и при адаптирането на растението към промени в околната среда.

В заключение получените в изследванията на гл. ас. д-р Данова постижения имат не само важно фундаментално значение, но и са приложими за селскостопанската практика при култивирането на изследваните от нея медицински и ароматни растения. Резултатите от тези проучвания създават солидна основа за прилагане на протокол с определени оптимална концентрация и комбинация от ИВА и ВА, което да доведе както до продуцирането на растения с висока фотосинтетична ефективност, така и с високо

натрупване на фенолни съединения и етерични масла със специфичен състав ниобходим според изискванията на фармацевтичната промишленост.

Представените документи по конкурса са изготвени изключително прецизно и оформени по разбираем и лесен за оценка начин. В хабилитационната справка, гл. ас. д-р Данова подробно и коректно е описала цялостните научни приноси на разработките, експериментите на които са проведени в ИОХЦФ-БАН и са публикувани в престижни научни списания със съавтори на статиите учени и от други научни институции. От Справката обаче, не става ясно какво е нейното лично участие при: разработването на цялостната концепция; формирането на екип от специалисти, владеещи методи в различни области; изготвяне на експериментален дизайн; обработка, анализ и интерпретация на резултатите за написване на статии или представяне с доклади или постери на научни форуми. Това е и единствената ми забележка към гл. ас. д-р Данова.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Документите и материалите, представени от гл. ас. д-р Калина Данова отговарят на всички изисквания на ЗРАСРБ, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ на БАН и Правилник на ИОХЦФ-БАН. Кандидатката в конкурса е представила достатъчен брой научни трудове, публикувани след материалите, използвани при защитата на ОНС 'доктор'. В работите ѝ има оригинални научни и приложни приноси, получили международно признание като представителна част от тях са публикувани в списания с висок ранг. Научната квалификация на гл. ас. д-р Данова е несъмнена и не може да се постави под съмнение. Постигнатите от нея резултати в научно-изследователската дейност, напълно съответстват на специфичните изисквания на Правилник на ИОХЦФ-БАН за приложение на ЗРАСРБ.

След запознаване с представените в конкурса материали и научни трудове, анализ на тяхната значимост и съдържащи се в тях научни и научно-приложни приноси, намирам за основателно да дам своята **положителна** оценка и да препоръчам на Научното жури да изготви доклад-предложение до Научния съвет на ИОХЦФ-БАН за избор на гл. ас. д-р Калина Монева Данова на академичната длъжност 'доцент' в ИОХЦФ-БАН по професионално направление 4.2.Химически науки, научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“.

..... 2019 г.

Изготвил становището:

(доц. д-р Мария Генева)

STATEMENT

Maria Prokopova Geneva – associate professor IPPG-BAS

For promotion procedure to the academic position "associate professor" at the Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry (IOCCP), BAS in the professional field 4.2. Chemical science, scientific speciality "Bioorganic chemistry, chemistry of natural and physiologically active compounds"

For participation in the announced promotion procedure in the Newspaper of State 43/31.05.2019 and on the web site of IOCCP, BAS, for an associate professor for the needs of the Laboratory of Chemistry of Natural Substances has submitted documents only one candidate: assistant professor Kalina Moneva Danova, PhD, from IOCCP, BAS. Presented by assistant professor Danova set of materials fully meet the requirements of the LDASRB and the Regulations on the Conditions for Procedures for Acquisition of Academic Degrees and Occupation of Academic Positions at IOCCP, BAS for the promotion to the academic position "Associate Professor".

The scientific publications of assist. Prof. Danova, presented for participation in the promotion procedure is in the field of creation of a protocol for *in vitro* propagation of *Hippophae rhamnoides* L., *Hypericum* species, *Artemisia alba* Turra, tracing the influence of the used growth regulators on the qualitative and quantitative composition of essential oils and some physiological indicators. The purpose of the research is the controlled cultivation of medicinal and aromatic plants with defined properties. The applicant has applied 7 scientific publications in group B - publications, which are referenced and indexed in world-recognized databases of scientific information, in which the candidate is referred to as the author of correspondence and are equated to habilitation work. Of these, 2 publications have Q1, 1 with Q2, 4 with Q3 factors. In Group D, the candidate has applied 14 scientific publications in editions that have been referenced and indexed in world-famous databases of scientific information other than habilitation work. The distribution of scientific works according to the relevant Q factors is - 3 papers are with Q1, 4 with Q2, 1 with Q3 and 3 Q4, as well as 3 books (in which the candidate is an only author). Also presented are: a list of 112 citations in scientific publications, monographs and collective volumes, referenced and indexed in world-famous scientific information databases; a list and abstracts of the candidate's participation in 98 Scientific Forums; a list of her participation in 14 research projects. All this is a good indicator of the quality of the candidate's scientific output.

Assistant Professor Danova in 2000 graduated from the Faculty of Pharmacy, Medical University, Sofia with a PhD in Phytochemistry. In 2010 she successfully defended his PhD thesis in the field of Plant Biotechnology and Plant Physiology at the Sofia University "St. Kl. Ohridski". In 2010 he started working as a chemist at IOCCP, BAS since 2001 is an assistant professor.

I think that the scientific interests of assistant professor Kalina Danova, are dedicated to a very topical and important field. Her scientific research is focused on the selection of type and concentration of growth regulators added to the nutrient medium to obtain the optimal protocol for *in vitro* propagation of the investigated medicinal and aromatic plants - *Hippophae rhamnoides* L., some plants from Genus *Hypericum*, *Artemisia alba* Turra and influence on the qualitative and quantitative composition phytochemicals (essential oils and phenolic compounds) as well as on some physiological parameters.

Indisputable success of assist. Prof. Danova's is her many years of efforts to create and characterize the protocol for *in vitro* propagation of *Artemisia alba* Turra. In her studies, she found that the morphological development of plants due to the addition of growth regulators (auxin - 0.5 and 1.0 mg L⁻¹ indole-3-butyric acid (IBA) and cytokinin 0.2 mg L⁻¹ 6-benzyladenine (BA)) in the MS culture medium affects the terpenoid biosynthetic pathway, the concentration of polyphenols and flavonoids, and photosynthetic parameters. Addition alone of IBA provokes the development of the root system over the shoot, associated with increased biosynthesis of oxidized monoterpenes, decreased concentration of polyphenols and flavonoids until the thylakoid macro organization is not changed. The combined addition of IBA and BA leads to a lack of root formation, callus formation and increased sesquiterpenes in essential oils, a decrease in the content of bioactive forms of endogenous cytokinins; disturbance of the structural organization of the photosynthetic apparatus and the architecture of chloroplasts, increase in the content of phenols and flavonoids. By identifying sesquiterpenes, it has established the presence of different sesquiterpenes in the aboveground and underground parts of the plants.

In the aboveground parts of *A. alba*, for the first time, it has identified ten new sesquiterpene alcohols of which seven germacrene, a eudesmane, a guaiane and an oplopane, as well as the phenolic compounds hispidulin, jaceosidin, desmethoxycentaureidin, and dicaffeoyl esters of quinic acid. It has been found that the flowers are rich in common phenols and flavonoids and has high antioxidant activity. In plant-samples collected from the Balkan Peninsula, flavones and flavonols are found, unlike those in the Mediterranean countries that contain only flavonols.

The candidate has conducted valuable studies on *Hippophae rhamnoides* L. (Blind) flavonoid content. The determined abundance of flavonoids found in the leaves of the *H. rhamnoides* (the higher values in the samples collected from the natural habitat near Varna, compared to the sample from the Botanical Gardens collection), makes the plant with potentially high pharmacological value and favourable for its cultivation in Bulgaria. Another important contribution of the candidate is to determine the best nutrient medium for induction of axillary bud from *H. rhamnoides* L. - adding 0.2 and 0.3 mg L⁻¹ BA in ¼ MS medium.

An important part of the research conducted by the candidate is devoted to the genus *Hypericum*. The relationship between antioxidant enzymatic and non-enzymatic activity and the polyphenolic content of the *in vitro* propagated hypericin not producing *H. calycinum* is investigated. The content of polyphenolic compounds in the hypericin non-producing *H. calycinum* was found to be higher than in the hypericin producing species *H. tetrapterum*, *H. rumeliacum* and *H. richeri*. In the evaluation of NO-antiradical activity in hypericin-producing species, lower activity in *H. tetrapterum* was measured compared to the other two species belonging to the evolutionarily more developed Drosocarpium section.

Assist. Prof. Danova compared the effect of vitamins in Gamborg and MS nutrient medium on the development, enzymatic and non-enzymatic antioxidant capacity of hypericin producing *H. rumeliacum* and *H. tetrapterum* and hypericin non-producing *H. calycinum*. It found that the Gamborg medium vitamins more increased the levels of hypericin, MDA and H₂O₂ in *H. rumeliacum* and *H. tetrapterum* compared to MS vitamins. She hypothesized that the increased content of hypericin and stress markers MDA and H₂O₂ may be related to the physiological stress that plants undergo during *in vitro* propagation. On the other hand, the high content of hypericin may cause additional oxidative stress. It implies that hypericin also plays a role in the adaptation of the plant to changes in the environment.

In conclusion, the assist. Prof. Danova's achievements are not only of fundamental importance but are also applicable to agricultural practice for the studied medicinal and aromatic plants cultivation. The results provide a solid basis for implementing a protocol with optimal concentration and combination of IBA and BA, resulting in both the production of plants with high photosynthetic efficiency and high accumulation of phenolic compounds and essential oils with a specific composition according to the requirements of the pharmaceutical industry.

The submitted documents for the competition have been prepared in a very precise manner and are designed in an understandable and easy to evaluate way. In the habilitation report, assist. Prof. Danova described in detail and correctly the complete scientific contributions, the experiments of which are carried out at IOCCP-BAS and are published in prestigious scientific journals with co-authors by scientists from other scientific institutions. However, it is not clear

from the habilitation Report what its personal involvement in: developing the overall concept; the team of specialists formation, proficient in methods in various fields; experimental design; processing, analyzing and interpreting results for writing articles or submitting a report for oral or posters presentation in scientific forums. This is also my only remark to assist. Prof. Danova.

CONCLUSION

The documents and materials presented by Assist. Prof. Kalina Danova fulfils all the requirements of the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria (LDASRB), the Regulations for the implementation of the LDASRB, the Regulations for the implementation of the LDASRB of the BAS and the Rules of the IOCCP-BAS. The candidate submitted a sufficient number of scientific papers, published after the materials used in the defence of the Doctor 's thesis. The applicant's works have original scientific and applied contributions that have received international recognition by being published in journals published by international academic publishers. The scientific qualification of the applicant is undoubtedly undeniable. Achieved by assist. Prof. Danova results in the research activity, fully completed the specific requirements of the IOCCP-BAS Regulations for the implementation of the LDASRB.

After getting acquainted with the materials and scientific works presented in the competition, analysis of their importance and the scientific, scientific-applied and applied contributions contained therein, I find it justifiable to give my positive assessment and to recommend to the Scientific Jury to prepare a report proposal to the Scientific Council of IOCCP-BAS for the selection of assist. Prof. Kalina Moneva Danova at the academic position of Associate Professor at IOCCP-BAS in the professional field 4.2. Chemical Sciences, scientific speciality "Bioorganic chemistry, chemistry of natural and physiologically active substances".

04.09.2019 г.

Prepared the statement:

(assoc. prof. M. Geneva)