

Рецензия

на материалите, представени за участие в конкурс за заемане на академичната длъжност "доцент" по Професионално направление 4.2. „Химически науки“, научна специалност „Теоретична химия“, за нуждите на Лаборатория “Структурен органичен анализ“ в Института по Органична Химия с Център по Фитохимия при БАН, обявен в Държавен вестник, брой 79 от 08.10.2019 г.

*Рецензент: проф. д-р Наташа Трендафилова,
Институт по обща и неорганична химия-БАН*

Единствен кандидат в обявения конкурс е гл. ас. д-р **Надежда Василева Маркова** от Института по Органична Химия с Център по Фитохимия при БАН (ИОХЦФ-БАН).

1. Обща характеристика на постъпилите материали. Представеният за участие в конкурса комплект материали е в пълно съответствие с изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение, Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в БАН и отговаря на специфичните критерии на ИОХЦФ за заемане на академичната длъжност (АД) “доцент“. Всички материали по конкурса са подготвени много старателно, нагледно и в детайли, със съответните доказателствени материали и не оставят никакво съмнение относно тяхната достоверност. Справката за изпълнението на минималните национални изисквания за Професионално направление 4.2. „Химически науки“, при заемане на АД „доцент“ показва, че гл. ас. д-р Надежда Маркова изпълнява, а по някои от показателите съществено надвишава, необходимия минимален брой точки. Подробен анализ на наукометричните показатели е даден в Раздел 3.

2. Кратки биографични данни, образование и професионален опит на кандидата. Гл. ас. д-р Маркова завършва висшето си образование в 2000 г. в Шуменски университет „Константин Преславски“, където се дипломира с образователно-квалификационна степен (ОКС) „Магистър по органична химия“. В периода 2002–2005 г., кандидатката е редовен докторант по докторска програма „Теоретична химия“ в ИОХЦФ-БАН. В 2006 г., след успешна защита на дисертационен труд на тема: „Теоретични изследвания на тавтомерни равновесия в органични молекули с отчитане на специфичното влияние на разтворителя“, Надежда Маркова придобива образователната и научна степен „доктор“ (“Теоретична химия”). В същата година е избрана за „гл. асистент“ в ИОХЦФ, където продължава да работи до момента. През 2006 г., д-р Маркова е провела специализация в Университета в Намюр, Белгия.

3. Оценка на научната дейност

Научни публикации, Хабилитационен труд, Проекти, Научни форуми. Пълният списък публикации на д-р Маркова съдържа 34 бр. оригинални научни труда, от които 27 бр. (79%) са публикувани в реномирани международни научни списания с импакт фактор, попадащи в квартали Q1-Q4, 2 са в списания с SJR, но без импакт фактор, 2 са в списания без импакт фактор и три са в сборници с материали на конференции. Общият импакт фактор на списанията е 51.73. В 11 от научните статии д-р Маркова е първи автор, а в 4 е кореспондиращ автор. Разпределението на 27-те статии по квартали на списанията, в които са публикувани е както следва: в списания от категорията Q1 – 7

бр., в списания Q2 – 8 бр., в списания Q3 – 6 бр., в списания Q4 – 6 бр. Броят на забелязаните цитати върху публикациите е 314 съгласно Google scholar (h-индекс = 9) и 261 съгласно Scopus (h-индекс = 7).

За участие в конкурса за „доцент“, д-р Маркова е избрала 18 научни труда, всичките по темата на настоящия конкурс. *Пет от тях представят задълбочени теоретични изследвания, изпълнени на високо научно ниво и обединени от една тема: „Водата като среда и катализатор при тавтомерни реакции“.* Тези публикации формират основата на Хабилизационния труд на кандидатката (Група показатели „В“). В четири от статиите на Хабилизационния труд, д-р Маркова е първи автор и основен изпълнител на изследванията. Статиите, включени в Хабилизационния труд са публикувани в реномирани международни списания, като четири от тях са в Q1 списания, а една е в Q2 списание. С тези публикации кандидатката напълно удовлетворява и дори надвишава изискванията на чл. 26 от ЗРАСРБ и правилника на БАН и ИОХЦФ за неговото приложение - постигнала е 120 точки при необходим минимум от 100 точки по Група показатели „В“. *Останалите 13 публикации, с които са изпълнени изискванията на Група показатели „Г“, също са по темата на конкурса и представят теоретични изследвания, в някои случаи подкрепени от експериментални измервания, насочени към изясняване на структурата и свойствата на различни съединения и структурни фрагменти, които са от особено значение за медицинската химия и биологията.* Разпределението на статиите включени в Група показатели „Г“ по квартали на списанията, в които са публикувани, е както следва: една публикация е в списание Q1, 5 публикации са в Q2 списания, 4 - са в Q3 списания и 3 броя публикации са в Q4 списания. С тези публикации са удовлетворени изискванията за минимум от 220 точки. По Група показатели „Д“, кандидатката е представила 100 броя цитати върху работите за участие в конкурса, с което са постигнати 200 точки и така, неколкостранно са надвишени изискванията за минимум от 70 точки по тази група показатели. *За рецензиране приемам всичките 18 научни публикации, представени от кандидатката за участие в настоящия конкурс.*

Участие в научни форуми. Д-р Маркова е представила достатъчно данни и убедителни доказателства за участие в научни форуми, на които тя е изнесла 18 устни доклада и представила 40 постера. Някои от участията са били отличени с награди: Грамота в Конкурса за високи научни постижения на СУБ за 2011 г.; Кристален Приз "The best paper" за най-добър доклад и статия, представена на Научна конференция с международно участие в 2015 г., Русенски университет (РУ) и Кристален Приз "The best paper" за най-добър доклад и статия представена на Научната конференция с международно участие в 2019 г., РУ. Д-р Маркова участва в организацията на два научни форума: IEEE EUROCON 2017, 17th IEEE International Conference on Smart Technologies, Special Session SS-7: "E-Infrastructure for Scientific Excellence", 6 – 8 юли 2017 Охрид, Р. Македония и International Conference on Smart Technologies IEEE 2019, 1-4 Юли, 2019, Нови Сад, Сърбия.

Участие в проекти и преподавателска дейност. Неразделна част от научната активност на д-р Маркова е участието ѝ в разработването и изпълнението на научни проекти и обучението на дипломанти и докторанти. Тя е ръководител на три проекта към Фонд „Научни Изследвания“ (ФНИ) и МОН и участник в три проекта към ФНИ, в

един проект между БАН и МАНУ и в три проекта по ЕБР с Белгия. Била е индивидуален участник в един проект на Аграрния университет в Пловдив. Д-р Маркова има и много успешно участие в проект BG051PO001-3.3.07-0002 „Студентски практики“ с 6 студенти (2-ма от СУ, 3-ма от ХТМУ и един от МУ). В рамките на Проект BG05M20P001-2.002-0001 „Студентски практики – Фаза 1”, кандидатката е участвала в обучението на 3-ма студенти (2-ма от СУ и един от МУ). Кандидатката има много активно участие в обучение на студенти и докторанти. През 2016 г. тя е била ръководител на дипломна работа за ОКС „бакалавър“ на студент от СУ - Нина Стоянова-Нанкова (сп. „Компютърна химия“), а по-късно, през 2018 г. и на дипломната ѝ работа за ОКС „магистър“ (сп. „Медицинска химия“). Д-р Маркова е участвала в подготовката и в повишаването на квалификацията на двама докторанти: един редовна форма на обучение в Югозападен Университет, за периода 2015-2017 г. (Бойка Миладинова Стойкова) и един докторант на самостоятелна подготовка в Аграрен Университет, Пловдив, за периода 2015-2017 г. (Румяна Проданова-Камалиева).

Хабилитационен труд (върху публикации в Група показатели „В“. Хабилитационният труд на д-р Маркова обединява системни теоретични изследвания, мотивирани от идеята за изследване на специфичната роля на водата като среда и катализатор при тавтомерни реакции. *С подходящи съвременни изчислителни методи тя е изучила термодинамичната стабилност, структурните и кинетичните характеристики на съединения и структурни фрагменти, както и на възможните тавтомерни форми и превръщания на три основни групи съединения: производни на нуклеинови бази, нуклеозиди и салицилиденанилини. Предложени са оригинални и надеждни изчислителни процедури, с които в една или в няколко стъпки, детайлно са изучени механизмите на реакциите на протонен пренос с участието на вода. Чрез изчерпателно молекулно моделиране на високи нива на теорията, са получени нови данни, с които са доказани стабилни молекулни структури и техни тавтомерни форми. Изучена е ролята на водата като катализатор в структурни фрагменти на ДНК и РНК, техни производни и Шифови бази с вътрешно-молекулни водородни връзки. Получените теоретични данни за структурата и за механизмите на реакциите с пренос на протон обясняват и предсказват съществуването на нови структурни форми и са от особено значение, тъй като са недостъпни за определяне по експериментален път.* Конкретните научни приноси на кандидатката, някои по-важни резултати и изводи от тях са дадени накратко по-долу.

Тавтомерни равновесия при производни на нуклеинови бази: 5-флуороурацил, 5-азаурацил и 6-азаурацил. Приносите на д-р Маркова при тези изследвания се състоят в натрупването на нови теоретични данни (не винаги достъпни за експеримента) за тавтомерните равновесия при 5-флуороурацил, 5-азаурацил и 6-азаурацил във воден разтвор, с които са осветлени механизмите на реакциите с пренос на протон и е изяснена ролята на водните молекули като среда и катализатор. За първи път, с помощта на *ab initio* квантово-химични изчисления и ЯМР спектроскопия, д-р Маркова изследва неутрални и заредени структури на 5-флуороурацил, формирани при различни рН стойности във воден разтвор (публ. 2). Установено е влиянието на водните молекули върху тавтомерните реакции между различните форми и е предложен механизъм, при който се пренасят няколко протона. Изучено е превръщането между двете тавтомерни

форми (оксо и хидрокси) и двата аниона на диоксо формата посредством раманова спектроскопия. Прилагайки точни *ab initio* квантово-химични изчисления (GAMESS) на вибрационните честоти в газова фаза и на четири-хидратиран клъстер, д-р Маркова доказва различни форми на *5-флуороурацил*. Влиянието на разтворителя върху тавтомерното превръщане на *5-флуороурацил* и неговите аниони е проследено чрез модел на „супермолекула“ по механизъм, при който се предполага пренос на няколко протона. На високо ниво на теорията, CCSD(T)/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p), са изчислени свободните енергии (ΔG_{298}) и е предсказан редът на стабилност на изследваните форми. *Предложена е комбинирана изчислителна процедура, базирана на методите на молекулната динамика и квантовата химия, с която коректно и задълбочено е изучено тавтомерното равновесие при 5- и 6-азаурацилите в присъствието на водни молекули, както и механизма на реакциите с пренос на протон в разтвор (публ. 3)*. За надеждно изследване ефекта на хидратирането е създаден модел от четири водни молекули, свързани към тавтомерите на *азаурацил* (модел на специфично солватиране). Ролята на водата като среда (глобално солватиране) е оценена чрез метода на самосъгласуваното реакционно поле и модела на проводима непрекъсната поляризуема среда. Изчисленията включват Монте Карло симулация, анализ на моделите на взаимодействие между разтворител и разтворено вещество и квантово-химично моделиране на процеса на образуване на клъстер в присъствие на вода. С надеждно изчислените свободни енергии на Гибс на различни тавтомери на *азаурацилите* е предсказан редът им на стабилност в газова фаза и във воден разтвор. Изследвана е възможността за междумолекулен пренос на протон при *5- и 6-азаурацил* с участието на водните молекули. Оценени са енергетичните бариери на тавтомерните реакции на ниво C-PCM/MP2/6-31+G(d,p). *Предсказано е, че в изследваните реакции, преносът на протон подпомогнат от водни молекули се осъществява по съгласуван механизъм*.

Тавтомерно равновесие в нуклеозиди. Гуанозин, ацикловир и инозин. *Научните приноси на д-р Маркова в рамките на тази тема се състоят в детайлното и коректно теоретично изучаване на структурата и стабилността на различни тавтомерни форми на гуанозин, ацикловир и инозин. Предложен е механизъм на реакциите на пренос на протон с участието на водни молекули.* Изчислени са относителните енергии на тавтомерите на *гуанозин* и *ацикловир* в газова фаза и в разтвор и е оценена стабилността им (публ. 5). Посредством разглеждане на различни конформации на рибозния пръстен в тавтомерната структура Gs-A на *гуанозин* е установено, че конформацията на разглеждания захарен остатък е близка до експерименталната, наблюдавана в естествената РНК. Точни изчисления на MP2/6-31+G(d,p) ниво са предсказали структура на *гуанозин*, близка до експериментално установената. Изчерпателно са разгледани три вида структури за *ацикловир* по отношение на страничната верига, която е свързана към N14. Специфичното солватиране е симулирано чрез експлицитно включване на водни молекули, моделиращи първата хидратна обвивка около молекулата. Позицията на тези водни молекули е уточнена чрез класическа Монте Карло симулация на разреждени водни разтвори на *гуанозин* (Gs) и *ацикловир* (ACV) и анализ на междумолекулните взаимодействия разтворител-разтворено вещество. Механизмът на протонен пренос с участието на водни молекули е

изследван на две нива: MP2/6-31+G(d,p) с отчитане само на близките взаимодействия между разтвореното вещество и водните молекули и на C-PCM/MP2/6-31+G(d,p)) ниво, чрез кълстери поставени в непрекъсната среда на разтворител, с отчитане както на близките така и на далечните взаимодействия. Резултатите са предсказали, че в газова фаза и във воден разтвор, 1Н-2-амино-6-оксо формата е най-стабилната тавтомерна структура за *гуанозин* и *ацикловир*, последвана от 2-амино-6-(sZ)-хидрокси формата. Енергетичните бариери на реакцията на подпомогнат от вода пренос на протон при *гуанозин* и *ацикловир* са много близки (11.74, 11.16 kcal mol⁻¹), а съответните скоростни константи са достатъчно големи за да се формира 2-амино-6-(sZ)-хидрокси тавтомер. Проследени са реакционните профили на реакциите и е предсказано, че когато са отчетени само близките взаимодействия на разтворителя (MP2/6-31+G(d,p)), преносът на протон се осъществява в една стъпка без междинни продукти, докато при използване на модела на глобално солватиране, профилът на реакцията се оказва различен. Реакционните профили са предсказали, че процесите на пренос на протон протичат по асинхронен съгласуван механизъм.

С помощта на аналогични изчислителни процедури са изследвани стабилността и структурните характеристики на възможните тавтомерни форми на *инозин* в газова фаза и във воден разтвор (*публ.* 4). Относителните свободни енергии на Гибс, изчислени на MP2/6-31+G(d,p) и SCS-MP2/6-31+G(d,p) нива на теорията са предсказали относителния ред на стабилност. И тук е изследван преносът на протон с участието на водните молекули. Кълстерите, съдържащи молекула *инозин* и пет водни молекули, са моделирани в среда от разтворител, разглеждана като поляризуема непрекъсната среда (CPCM/MP2/6-31+G(d,p)). Изчисленият енергетичен бариер на реакцията с пренос на протон за *инозин* (12.9 kcal mol⁻¹) и изчислената скоростна константа ($k = 6,68 \times 10^1 \text{ s}^{-1}$) са предсказали формирането на 6-енол тавтомер. Реакционният профил е показал, че процесът на пренос на протон протича по асинхронен съгласуван механизъм. Според направените теоретични прогнози по отношение на кинетиката на тавтомерното превръщане на *инозин* във вода и според изчисления на вибрационни честоти е предсказано, че хидрокси-тавтомерът може присъства в разтвора, въпреки че експерименталните ИЧ и Раманови спектри на *инозин* във вода не са показали това. *Чрез проведените изчерпателни изчисления представени в този раздел е показано, че ако изчислените енергетични бариери на подпомогнатите от вода реакции на протонен пренос са в интервала 12–17 kcal mol⁻¹, то тавтомерните превръщания са кинетично възможни процеси.*

Кето-енолна тавтомерия при салицилиденанилини. С помощта на последователни изчислителни процедури, на различни нива на теорията (HF, B3LYP, MP2 и MP4//MP2), д-р Маркова е изследвала в детайли кето-енолното тавтомерно равновесие и по-специално кето-аминното/енол-иминното равновесие при серия от заместени салицилиденанилини (*публ.* 1). Предсказани са най-стабилните структури в газова фаза и в разтвор в зависимост от използваните изчислителни методи. Установена е зависимост на изчислените енергетични бариери на тавтомерните превръщания от използвания структурен модел и изчислителен метод. *Направен е важен извод, че за коректното предсказване на стабилността на структурите и на енергетичните бариери на реакциите с пренос на протон е необходимо да се прилагат комбинирани*

изчислителни модели, включващи както специфично солватиране (отделни молекули разтворител), така и глобално солватиране (поляризуема непрекъсната среда).

Оригинални научни приноси в публикациите в Група показатели „Г“. Научните приноси в 13-те научни статии извън Хабилитационния труд са в областта на теоретичното моделиране (DFT и *ab initio*) и изучаване на структурата, физикохимичните и кинетичните свойства на неутрални и заредени структури и биомолекулни фрагменти, различни тавтомерни форми и равновесия с отчитане на ролята на разтворителя и възможността за водородно свързване и пренос на протон с участието на водни молекули. Две научни публикации са посветени на изучаването на механизми на органични реакции. Предложен е нов модел тавтомерна система с малка разлика в енергиите на тавтомерните форми и сравнително ниска активационна бариера. Под въздействие на постоянно външно електрично поле, в зависимост от посоката и амплитудата му, се стабилизират различни тавтомерни форми, поради което тази система би могла да се използва при дизайна на нови молекулни електронни устройства. (публ. 3). Изучени са абсорбционните и флуоресцентните свойства на новосинтезирано съединение, 3,6-бис(4,5-дихидроксиоксазо-2-ил)бензен-1,2-диол в етанол, което показва необичайно силно стоксово отместване. С DFT/TDDFT изчисления са изследвани всички възможни тавтомерни форми в основно и възбудено състояние. Предложен е механизъм за вътрешномолекулен пренос на протон в първо синглетно възбудено състояние, при който се извършват две последователни реакции на тавтомеризация (публ. 4). Друга група публикации са посветени на изучаването на структурата на органични и координационни съединения. Посредством *ab initio* квантово-химични изчисления (MP2, MP4) и ИЧ спектроскопия са проведени структурни изследвания, с които е показано, че 2-амино-тиазолидин-4-он и неговия изомер, 4-амино-тиазолидин-2-он съществуват в разтвор под формата на *амино тавтомер*. С този резултат е опровергано твърдението на други автори, че 4-амино-тиазолидин-2-он съществува като *имино тавтомер*. Теоретично е предсказано и експериментално (ИЧ спектроскопия) е доказано, че в D₂O присъстват две тавтомерни форми на псевдотиохидантоин: 2-амино-4-оксо-тиазолидин, който доминира и 2-имино-4-оксо-1,3-тиазолидин, който се открива в малки количества (близо до границите на измерване на метода) (публ. 11). С полуемпирични (PM3) и *ab initio* (HF/3-21G, HF/6-31G**//HF/3-21G) квантово-химични изчисления са изучени тавтомерните форми на неутралната молекула на *даунорубицин*, на комплексите им с една молекула DMSO и три димерни структури на *даунорубицин*, като е оценен ефектът на средата върху относителните стабилности на тавтомерите. Проведени са GIAO изчисления за обяснение на експерименталните ЯМР спектри. Квантово-химично моделиране, съвместно с ЯМР спектроскопски измервания и изчисления са използвани за структурно охарактеризиране и определяне на предпочитаното разпределение на стереохимичната последователност на мономерните единици в хомополимерните вериги на наночастици на поли(бутил- α -цианоакрилат) (носител на активна лекарствена субстанция 5-флуороурацил и *даунорубицин*). Показано е, че наличието на 5-флуороурацил в реакционната среда (физиологичен разтвор, рН 10–11) оказва влияние върху полимеризацията и върху образуването на наночастиците, повлиявайки иницирането на полимеризационна реакция. *Флуороурацила* действа като инициатор

на анионна полимеризация на мономера *n*-бутилцианоакрилат посредством нуклеофилните си азотни атоми (*публ.* 1,2). С помощта на квантово-химични изчисления, инфрачервени спектри и ЯМР параметри е изяснена структурата на редица новосинтезирани производни на бромирани амиди на цинамоилови аминокиселини, спирохидантоини, на 1,8-нафталимиди и на хидразин с различни приложения в медицината като противотуморни, антимикробни и антиконвулсни агенти (*публ.* 7, 8, 9, 10 и 13). Посредством теоретични и експериментални изследвания са изучени фотофизичните свойства на две тавтомерни форми на 2-карбамидо-1,3-индандион (CAID), който би могъл да бъде донор на протони при водородни връзки и потенциален биомаркер и слънцезащитно средство. Теоретично изчислени и сравнени с експеримента са УВ и флуоресцентни спектри като е показано, че и двете енолни форми, 2-(хидроксиламинометилиден)-индан-1,3-дион и 2-карбоамид-1-хидрокси-3-оксо-индан, съществуват в разтвор (*публ.* 5). С помощта на *ab initio* и DFT методи са оптимизирани и сравнени структурите на N-(4-бензаланилин)-15-краун-5 и неговите комплекси с Li^+ , Na^+ , K^+ , Be^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} и Ba^{2+} . От теоретичните и експериментални ЯМР спектри е установено, че във всички случаи M^{n+} -N разстоянията ($n=1,2$) са по-дълги от средните M^{n+} -O разстояния в съответните комплекси и, че M-N разстоянията в комплексите с алкални метали са по-дълги от тези с алкалоземните. Предсказано е, че Li^+ , Na^+ , Mg^{2+} и Ca^{2+} се разполагат в кухината на короната, докато K^+ , Sr^{2+} и Ba^{2+} , чийто размер е по-голям от диаметъра на кухината на макроцикъла, се разполагат извън него. Конформацията на коронния етер не се променя с изключение на комплекса на Be^{2+} , където конформацията на макроцикъла е силно деформирана (*публ.* 12). Доказано е, че две новосинтезирани съединения: 2-(метилтио)-1,3-дiazаспиро[4.4]нон-2-ен-4-он и 2-(метилтио)-1,3-дiazа-спиро[4.4]нон-2-ен-4-тион, съществуват под формата на различни тавтомери в твърда фаза и в разтвор. Предложено е това явление да бъде наречено *десмокататропия* (от гръцките думи δεσμός (връзка), κατάστασις (състояние) и τροπή (промяна)) (*публ.* 6).

4. Заключение **становище.** В конкурса за заемане на АД „доцент“, гл. ас. д-р Надежда Маркова е представила достатъчен брой научни трудове, публикувани в реномирани международни списания с импакт фактор, които напълно съответстват на темата на конкурса, на ЗРАСРБ и на специфичните изисквания на БАН и ИОХЦФ за неговото приложение. Представената научна продукция доказва по безспорен начин компетентността на кандидатката да провежда самостоятелно и да ръководи стойностни теоретични изследвания в бъдеще. Постигнатите резултати в научно-изследователската и преподавателската ѝ дейност, както и участията ѝ в редица научни проекти и научни форуми, очертават профила на талантлив млад и задълбочен учен, с ясно оформени изследователски интереси и постижения в областта на теоретичната и изчислителната химия. След анализа на представените в конкурса материали и на базата на отличните ми лични впечатления, намирам за основателно да дам своята положителна оценка и убедено да гласувам с „да“ за избора на гл. ас. д-р Надежда Василева Маркова на АД „доцент“ по Професионално направление 4.2. „Химически науки“, научна специалност „Теоретична химия“.

26.01.2020 г.

Рецензент:

(Наташа Трендафилова, проф. д-р ИОНХ-БАН)

Review

of the materials submitted for participation in the competition for occupation of academic position "**Associate Professor**" in the professional field 4.2. "Chemical Sciences", scientific specialty "Theoretical Chemistry", for the needs of the Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry (IOCCP), Laboratory "Structural Organic Analysis", published in the State Gazette, issue 79 of 08.10.2019.

*Reviewer: Prof. Dr. Natasha Trendafilova,
Institute of General and Inorganic Chemistry-Bulgarian Academy of Sciences*

The only candidate in the announced competition is **Chief Assistant Dr. Nadezhda Vasileva Markova** (IOCCP- BAS).

1. General characteristics of the received materials. The set of materials submitted for participation in the competition is in full accordance with the requirements of the Law for the development of the academic staff in Republic of Bulgaria and the Regulations for its implementation, the Rules for the conditions and the order for acquiring scientific degrees and for occupying academic positions in BAS and meets the specific criteria of IOCCP for taking the academic position of "Associate Professor". All competition materials have been prepared very carefully, clearly and in detail, with relevant supporting materials and leave no doubt as to their authenticity. The report on the implementation of the minimum national requirements under Art. 2b of the Law for the development of the academic staff in Republic of Bulgaria for Professional field 4.2. "Chemical Sciences", when taking the academic position of "Associate Professor", shows that the candidate fulfills and by some of the indicators significantly exceeds the required minimum points. Detailed analysis is given below, Section 3.

2. Brief CV, education and professional experience. Chief Assistant Dr. Nadezhda Markova has completed her higher education in 2000 at the "Konstantin Preslavski" University of Shumen, where she graduated with a Master's Degree in Organic Chemistry. In the period 2002-2005, the candidate is a full-time PhD student in the PhD program "Theoretical Chemistry" at IOCCP-BAS. In 2006, after successful defending of her PhD thesis on the topic: "Theoretical studies of tautomeric equilibria in organic molecules, taking into account the specific influence of the solvent", Nadezhda Markova obtained the educational and scientific degree "doctor" in the scientific specialty "Theoretical Chemistry". In the same year she was elected as "Chief Assistant" at IOCCP, where she continues to work. In 2006, Dr. Markova specializes at the University of Namur, Belgium.

3. Evaluation of scientific activity

Scientific publications, Habilitation work, Projects, Scientific forums. The full list of publications of Dr. Markova contains 34 scientific works, of which: 27 (79%) have been published in reputable scientific journals with impact factor, falling in quartiles Q1-Q4, 2 are in journals with SJR, but without impact factor, 2 are in non-impact factor journals and three are in conference

proceedings. The total impact factor of the journals is 51.73. In 11 of the scientific papers, Dr. Markova is the first author, and in 4 - she is the corresponding author. The distribution of the 27 articles by quartiles of the journals, in which they are published, is as follows: in journals of the category Q1 - 7, in Q2 journals - 8, in Q3 journals – 6 and in Q4 journals - 6. The number of the citations noted on the publications is 314 according to Google scholar (h-index = 9) and 261 according to Scopus (h-index = 7).

To participate in the "Associate Professor" competition, Dr. Markova has selected 18 original scientific papers, all on the topic of this competition. Five of them present in-depth theoretical studies, done at high scientific level and combined by one theme: "Water as a medium and catalyst for tautomeric reactions". These publications form the basis of the candidate's Habilitation work (Group indicators "B"). In four of the habilitation papers, Dr. Markova is the first author and principal performer of the research. The articles included in the habilitation work have been published in reputable international journals, four of them in Q1 journals and one in Q2 journals. With these publications the candidate completely satisfies and even exceeds the requirements of Art. 2b of the Law for the development of the academic staff in Republic of Bulgaria and the Regulations of BAS and IOCCP for its implementation – she has reached 120 points with the required minimum of 100 points per group of indicators "B". The other 13 publications that meet the requirements of group "G(Γ)" indicators present theoretical studies, in some cases supported by experimental measurements, aimed at clarifying the structure and properties of various compounds and structural fragments of particular importance for the medicinal chemistry and biology. The distribution of the articles included in the "G(Γ)" group indicators by quartile of the journals, in which they are published, is as follows: one publication is in Q1 journal, 5 publications are in Q2 journals, 4 are in Q3 journals and 3 publications are in Q4 journals. With these publications the candidate has met the requirements for a minimum of 220 points. For the group "D(Δ)" indicators she presented 100 citations on the publications for participation in the present competition, which has achieved 200 points, and thus, the requirements for a minimum of 70 points for this group of indicators have been repeatedly exceeded. *For review, I accept all the 18 scientific publications, presented by Dr. Markova for participation in the present competition.*

Participation in scientific forums. Dr. Markova included in the materials enough data and sufficient evidences for participations in scientific forums, at which she has presented 18 oral reports and 40 posters. Some of the participations were awarded: Certificate in the Competition for Excellence of the Union of Scientists in Bulgaria for 2011; Crystal prize "The best paper" for best report and article presented at Scientific Conference with International Participation in 2015, University of Rouse and Crystal prize "The best paper" for best report and article presented at Scientific conference with International participation in 2019, University of Rouse. Dr. Markova participated in the organization of two scientific forums: IEEE EUROCON 2017, 17th IEEE International Conference on Smart Technologies, Special Session SS-7: "E-Infrastructure for Scientific Excellence", 6-8 July 2017 Ohrid, Macedonia and International Conference on Smart Technologies IEEE 2019, 1-4 July, 2019, Novi Sad, Serbia.

Participation in projects and teaching. An integral part of Dr. Markova's scientific activity is her participation in the development and implementation of scientific projects and the training of graduate and doctoral students. Dr. Markova is the head of three projects at the Scientific Research Fund (FNI) and the Ministry of Education and Science and a participant in three projects at the FNI, in one project between BAS and MANU and in three EBR (EBP) projects with Belgium. She was an individual participant in a project of the Agricultural University in Plovdiv. She is also involved in Project BG051PO001-3.3.07-0002 "Student Practices" with 6 students (2 from Sofia University, 3 from the University of Chemical Technology and Metallurgy and one from Sofia Medical University. Within Project BG05M20P001-2.002-0001 " Student Practices - Phase 1", the candidate participated in the training of 3 students (2 from Sofia University and one from Medical University). In 2016, Dr. Markova was the supervisor of the diploma work for Bachelor's Degree of a student from Sofia University - Nina Stoyanova-Nankova (specialty "Comp. Chemistry") and later, in 2018, of her diploma work for the Master's Degree (specialty "Med. Chemistry"). Dr. Markova has participated in the education and improvement of the qualification of two PhD students: one full-time PhD student at Southwestern University for the period 2015-2017 (Boyka Miladinova Stoykova) and one PhD student of individual program at the Agricultural University, Plovdiv, for the period 2015-2017 (Rumyana Prodanova-Kamalieva).

Original Scientific Contributions in the Habilitation Work (Publications in the "B" Group of Indicators). Dr. Markova's Habilitation Work combines systematic theoretical studies motivated by the idea of investigating the specific role of the water as a medium and catalyst in tautomeric reactions. *Studied are the thermodynamic stability, structural and kinetic characteristics of compounds and structural fragments, as well as the possible tautomeric forms and transformations of three main groups of compounds: nucleic bases derivatives, nucleosides and salicylideneanilines. Original and reliable computational procedures have been proposed to study in detail, in one or several steps, the mechanisms of reactions with water-assisted proton transfer. Through comprehensive molecular modeling at high levels of theory, new data have been obtained to prove stable molecular structures and their tautomeric forms. The role of water as a catalyst in structural fragments of DNA and RNA, their derivatives and Schiff bases with intramolecular hydrogen bonds has been studied. The obtained theoretical data on the structure and mechanisms of proton transfer reactions explain and predict the existence of new structural forms and are of particular importance as they are inaccessible for experimental determination.* The specific scientific contributions, some of the more important results and conclusions are summarized below.

Tautomeric equilibria at nucleic bases derivatives: 5-fluorouracil, 5-azauracil and 6-azauracil. Dr. Markova's contributions in these studies consist in the accumulation of new theoretical data on tautomeric equilibria in 5-fluorouracil, 5-azauracil and 6-azauracil in aqueous solution, which shed light on the mechanisms of proton transfer reactions and clarify the role of water molecules as a medium and catalyst. For the first time, using *ab initio* quantum-chemical calculations and NMR spectroscopy, Dr. Markova examined the neutral and charged structures of 5-fluorouracil formed at different pH values in aqueous solution (*Publication 2*). The influence of water

molecules on the tautomeric reactions between the various forms has been established and a mechanism is proposed, in which several protons are transferred. The conversion between the two tautomeric forms (oxo and hydroxy) and the two dioxo form anions has been studied by Raman spectroscopy. By applying accurate *ab initio* quantum-chemical calculations (GAMESS) for vibration frequencies calculations in the gas phase and for the four-hydrated cluster, Dr. Markova proved various forms of *5-fluorouracil*. The effect of the solvent on the tautomeric conversion of *5-fluorouracil* and its anions was studied using a “supermolecule” model and by mechanism that involves the transfer of several protons. At a high level of theory, CCSD(T)/6-31+G(d,p)//MP2/6-31+G(d,p), the free energies (ΔG_{298}) are calculated and the order of stability of the investigated forms is predicted.

By a combined computational procedure based on molecular dynamics and quantum chemistry methods, the tautomeric equilibrium of *5- and 6-azauracils* in the presence of water molecules as well as the mechanism of the proton transfer reactions in solution were correctly and thoroughly studied (*Publication 3*). A model of four water molecules attached to *azauracil* tautomers (specific solvation model) was created for reliable investigation of the effect of hydration. The role of water as a medium (global solvation) has been evaluated by the method of self-consistent reaction field and the PCM model. The calculations included Monte Carlo simulation, analysis of solvent-solute interaction models, and quantum-chemical modeling of the cluster formation process in the presence of water. With the reliably calculated Gibbs free energies of different *azauracil* tautomers, their order of stability in the gas phase and in aqueous solution is predicted. The possibility of intermolecular proton transfer in *5- and 6-azauracil* with the participation of water molecules was investigated. The energy barriers of tautomeric reactions were calculated at C-PCM/MP2/6-31+G(d,p) level of the theory. It has been predicted that in the reactions studied, the transfer of proton assisted by water molecules is carried out by a concerted mechanism.

Tautomeric equilibrium in nucleosides. Guanosine, acyclovir and inosine. Dr. Markova's scientific contributions to this topic consist in a detailed and correct theoretical study of the structure and stability of various tautomeric forms of guanosine, acyclovir and inosine. A mechanism for proton transfer reactions involving water molecules is proposed. The relative energies of the *guanosine* and *acyclovir* tautomers in the gas phase and in solution were calculated and their stability order was evaluated (*Publication 5*). By examining various conformations of the ribose ring in the tautomeric structure of *guanosine Gs-A*, it has been found that the conformation of the sugar residue in question is close to that observed in native RNA. Accurate calculations at MP2/6-31+G(d,p) level predicted a *guanosine* structure close to the experimentally established one. Three types of *acyclovir* structures have been exhaustively considered in relation to the side chain that is attached to N14. Specific solvation is simulated by explicitly incorporating water molecules that model the first hydration shell around the molecule. The position of these water molecules is specified by classical Monte Carlo simulation of dilute *guanosine* (Gs) and *acyclovir* (ACV) aqueous solutions and solvent-solute intermolecular interaction analysis. The mechanism of the water-assisted proton transfer was investigated at two levels: MP2/6-31+G(d,p) taking into account only the short-range interactions between the solute and the water molecules and

optimization of the cluster with four water molecules using the conductor-like polarizable continuum model (C-PCM/MP2/6-31+G(d,p)) level, taking into account both short- and long-range interactions. The results predicted that in the gas phase and in aqueous solution, the 1H-2-amino-6-oxo form is the most stable tautomeric structure for *guanosine* and *acyclovir*, followed by the 2-amino-6-(sZ)-hydroxy form. The energy barriers of the reaction of water-assisted proton transfer in *guanosine* and *acyclovir* are very close (11.74, 11.16 kcal mol⁻¹), and the corresponding rate constants are large enough to form 2-amino-6-(sZ)-hydroxy tautomer. The reaction profiles of the reactions were investigated and it was predicted that when only the short-range interactions with the solvent (MP2/6-31+G(d,p)) were taken into account, the proton transfer proceeds in one step without intermediates, whereas when using in addition the model of long-range interactions (global solvation), the reaction profile turns out to be different. The reaction profiles predicted that proton transfer processes proceed through an asynchronous concerted mechanism.

The stability and structural characteristics of the possible tautomeric forms of *inosine* in the gas phase and in aqueous solution were investigated using analogous calculation procedures (*Publication 4*). The Gibbs relative free energies calculated at MP2/6-31+G(d,p) and SCS-MP2/6-31+G(d,p) levels of theory predicted the relative order of stability. The proton transfer with the participation of water molecules was investigated. Clusters, containing an *inosine* molecule and five water molecules were modeled at C-PCM/MP2/6-31+G(d,p) level. The calculated energy barrier of the proton transfer reaction for *inosine* (12.9 kcal mol⁻¹) and the calculated rate constant ($k = 6.68 \times 10^1 \text{ s}^{-1}$) predicted the formation of the 6-enol tautomer. The reaction profile showed that the proton transfer proceeds through an asynchronous concerted mechanism. According to theoretical predictions regarding the kinetics of tautomeric conversion of *inosine* in water, and according to vibrational frequency calculations, it is predicted that the hydroxy-tautomer may be present in solution, although the experimental IR and Raman spectra of *inosine* in water have not shown this. *The exhaustive calculations presented in this section for different nucleosides show that if the calculated energy barriers of water-assisted proton transfer reactions are in the range of 12–17 kcal mol⁻¹, then tautomeric transformations are kinetically possible processes.*

Keto-enol tautomerism in salicylideneanilines. Using sequent computational procedures at different levels of theory (HF, B3LYP, MP2, and MP4//MP2), Dr. Markova examined in details the keto-enol tautomeric equilibrium, and in particular the keto-amine/enol-imine equilibrium in a series of substituted salicylideneanilines (*Publication 1*). The most stable structures in the gas phase and in solution are predicted depending on the calculation methods used. The dependence of the calculated energy barriers of the tautomeric transformations on the used structural model and calculation method has been established. It is important to conclude that in order to correctly predict the stability of structures and energy barriers of proton transfer reactions, combined models including both specific solvation and global solvation need to be applied in the calculations.

Original scientific contributions to publications in Group Indicators “G” (,,Γ“). *The scientific contributions in the 13 scientific articles outside the Habilitation work are in the field of theoretical modeling (DFT and ab initio) and the study of the structure, physicochemical and kinetic*

properties of neutral and charged structures and biomolecular fragments, various tautomeric forms and equilibria with consideration of the solvent role and the possibility of hydrogen bonding and proton transfer with the participation of water molecules. Two scientific publications are devoted to the study of mechanisms of organic reactions. A new tautomeric system is proposed with a small difference in the energies of the tautomeric forms and a relatively low activation barrier. In the presence of an external electric field, depending on its direction and amplitude, different tautomeric forms stabilize, which is why this system could be used in the design of new molecular electronic devices (*Publication 3*). The absorption and fluorescence properties of a newly synthesized compound, 3,6-bis(4,5-dihydroxyoxazo-2-yl) benzene-1,2-diol in ethanol, were studied, showing an unusually strong Stokes shift. DFT/TDDFT calculations were applied to investigate all possible tautomeric forms in the ground and excited states. A mechanism for intramolecular proton transfer in the first singlet excited state is proposed, in which two successive tautomerization reactions are carried out (*Publication 4*). Another group of publications is devoted to the study of the structure of organic and coordination compounds. Through ab initio quantum chemical calculations (MP2, MP4) and IR spectroscopy, structural studies have been performed to show that 2-amino-thiazolidin-4-on and its isomer 4-amino-thiazolidin-2-on exist in solution in the form of an *amino* tautomer. This result refutes the claim of other authors that 4-amino-thiazolidin-2-on exists as an imino tautomer. It is theoretically predicted and proven by IR spectra that two tautomeric forms of pseudothiohydantoin are present in D₂O: 2-amino-4-oxo-thiazolidine, which dominates, and 2-imino-4-oxo-1,3-thiazolidine, which is found in small quantities (close to the measurement limits of the method) (*Publication 11*). Semi-empirical (PM3) and *ab initio* (HF/3-21G, HF/6-31G**//HF/3-21G) quantum-chemical calculations have been used to study the tautomeric forms of the neutral molecule of *daunorubicin*, their complexes with one DMSO molecule and three dimeric structures of *daunorubicin*, evaluating the effect of the medium on the relative stability of the tautomers. GIAO calculations were performed to explain the experimental NMR spectra. Quantum-chemical modeling, together with NMR spectroscopic measurements and calculations, have been used for structural characterization and determination of the preferred distribution of the stereochemical sequence of the monomer units in the homopolymer chains of poly(butyl- α -cyanoacrylate) nanoparticles (carriers of the active drug substance *5-fluorouracil* and *daunorubicin*). The presence of *5-fluorouracil* in the reaction medium (saline, pH 10-11) has been shown to influence the polymerization and nanoparticle formation, affecting the initiation of the polymerization reaction. *Fluorouracil* acts as an initiator of the anionic polymerization of the n-butylcyanoacrylate monomer via its nucleophilic nitrogen atoms (*Publication 1,2*). Using quantum-chemical calculations, infrared spectra and NMR parameters, the structure of a number newly synthesized derivatives of brominated amide of cinnamoyl amino acids, spirohydantoin, 1,8-naphthalimides and hydrazine with various applications in medicine as anticancer, antimicrobial and anticonvulsant drugs. (*Publications 7, 8, 9, 10 and 13*). The photophysical properties of the two tautomeric forms of 2-carbamido-1,3-indanedione (CAID), which could be a proton donor in hydrogen bonds and a potential biomarker and sunscreen reagent, were investigated through theoretical and experimental studies. The UV and fluorescence spectra were

theoretically calculated and compared to the experiment. It was shown that both enol forms, 2-(hydroxylaminomethylidene)-indane-1,3-dione and 2-carboamido-1-hydroxy-3-oxo-indane, exist in solution (*Publication 5*). The structures of N-(4-benzalaniline)-15-crown-5 and its complexes with Li^+ , Na^+ , K^+ , Be^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} and Ba^{2+} were optimized and compared using ab initio and DFT methods. From theoretical and experimental NMR spectra, it has been found that in all cases the distances $\text{M}^{n+}\text{-N}$ ($n = 1,2$) are longer than the average $\text{M}^{n+}\text{-O}$ distances in the respective complexes and the distances between metal and nitrogen in the alkali metal complexes are longer than alkaline earth ones. Li^+ , Na^+ , Mg^{2+} and Ca^{2+} are inserted into the cavity of the crown, while K^+ , Sr^{2+} and Ba^{2+} , whose size is larger than the diameter of the macrocycle cavity, are positioned outside it. The conformation of the crown ether does not change except for the Be^{2+} complex where the macrocycle conformation is highly deformed (*Publication 12*). Two newly synthesized compounds have been proven to exist in the form of various tautomers in solid phase and in solution: 2-(methylthio)-1,3-diazaspiro[4.4]non-2-en-4-on and 2-(methylthio)-1,3-diazaspiro[4.4]non-2-en-4-thion. It has been suggested that this phenomenon could be called desmocatropia (from the Greek words: δεσμός (bond), κατάσταση (state) and τρόπος (change)) (*Publication 6*).

4. Final Opinion. In the competition for the academic position “Associate Professor”, Chief Assistant Dr. Nadezhda Markova has presented a sufficient number of scientific papers published in reputable international journals with an impact factor, which fully comply with the Law for the development of the academic staff in the Republic of Bulgaria and the specific requirements of BAS and IOCCP for its application. The scientific output presented, undoubtedly proves the applicant's competence to perform and to conduct valuable theoretical studies in the future. The scientific achievement of Dr. Markova, her teaching activities, as well as her participation in a number of scientific projects and scientific forums, outline the profile of a young and in-depth scientist, with well-defined research interests and achievements in the field of theoretical and computational chemistry. *After analyzing the materials presented and based on my excellent personal impressions, I find it justifiable to give my positive assessment by voting "yes" for the selection of Chief Assistant Dr. Nadezhda Markova in the academic position "Associate Professor" in Professional Field 4.2. "Chemical Sciences", specialty "Theoretical Chemistry".*

23.01.2020

Reviewer:

(Natasha Trendafilova, Prof. Dr. IGIC-BAS)