

РЕЦЕНЗИЯ

от

доцент д-р Милка Николова Тодорова от секция ХПВ, ИОХЦФ, БАН,
член на научното жури за провеждане на конкурс за “Доцент” по Биоорганична
химия, химия на природните и физиологично активните вещества
/шифър 01.05.10/, направление 4.2 Химически науки /
/заповед РД-09-120/18.09.2013 в ИОХ ЦФ-БАН

В конкурса за „Доцент” по Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества в ИОХ ЦФ-БАН се явява един кандидат д-р Милена Попова от лаб. ХПВ в същия институт.

Д-р Милена Попова е родена на 25.09.1974 г. в гр. Бяла. Завършва техникум по индустриална химия в гр. Русе през 1993 г. Продължава образованието си в Химически факултет на СУ „Св. Климент Охридски”. Изготвя дипломната си работа а по-късно, през 2004 г. защитава дисертация на тема „Химичен състав и биологична активност на прополис от различни географски райони и видове пчели” за присъждане на образователна и научна степен “доктор” в ИОХЦФ-БАН.

За участие в конкурса кандидатът е представил:

- 37 научни публикации, отпечатани в български и международни научни списания. От тях 8 (Д1-Д8) са включени в дисертационния труд, поради което няма да бъдат рецензирани. От заглавията извън дисертацията 2 са глави от книги, 3 ревьюта и 1 мини ревью. 20 от списанията са с ИФ а останалите са в специализирани издания;
- Автореферат на дисертацията за образователната и научна степен "доктор";
- 18 участия с представяне на резултати на национални и международни научни мероприятия;
- 19 участия в научно-изследователски проекти и договори: 5 проекта финансирани от ФНИ, МОМН; 1 проект по ЕБР; 2 проекта по 7 РП; 9 международни договори с фирми и 1 договор с ИЖН-Костинброд;
- 794 забелязани цитата на научните статии, от които 297 са на публикациите включени в дисертационния труд.

Научната дейност на д-р М. Попова е в областта на химията на природните вещества – изолиране, идентифициране, структурно охарактеризиране, количествено определяне на индивидуални и/или определен тип вторични метаболити и тяхната биологична активност, подходи за стандартизация.

Проведените изследвания от кандидата са насочени в 2 направления – фитохимични изследвания на лечебни растения и гъби и изследвания на прополис.

1. Фитохимични изследвания на лечебни растения и гъби

Резултатите от това направление са отразени в публикации 1, 18, 19 и 14.

При анализ на *Uvaria chamae* (1) са изолирани и идентифицирани 7 изохинолинови алкалоида, от които 2 са нови за рода *Uvaria* и 3 са нови за вида. Установена е цитотоксична активност срещу ракови клетки.

В плодовете на *Angelica lucida* (19) са намерени 5 познати кумарина, проявяващи антибактериална активност, вкл. орални патогени.

Резултатите от изследване на *Fomitopsis rosea* (18) са – изолиране на едно стеролово производно и 5 тритерпеоида от ланостанов тип, от които 2 са нови природни вещества. От хемотаксономична гледна точка е показана близостта на родовете *Fomitopsis* и *Daedalea*. Проведените тестове за биологична активност показват, че всички тествани материали от *F. rosea* са активни срещу *S. aureus*.

Към това направление могат да се отнесат и обобщените литературни данни за химичния състав на листа от различни сортове лози включващи БАВ от различен структурен тип, значението им за автозащита срещу различни патогени както и за човешкото здраве (14).

Резултатите от тези изследвания обогатяват данните за фитохимичния профил на изследваните обекти както и за съответно изследваните биологични активности.

2. Изследвания на прополис

Впечатлява серията работи са посветени на изследване на прополис, известен от древността пчелен продукт, обект привличащ особено вниманието на учените през последните години. Пчелният клей е интересен тъй като от една страна играе антивирусна и антибактериална роля в пчелния кошер, от друга се използва за профилактика и лечение на различни болести при хората. Като сборен продукт от различни растителни видове той е богата многокомпонентна смес което го прави изключително сложен обект за изследване. Д-р Попова и колектив са си поставили амбициозна задача да изследват химичния състав на прополис от различни географски ширини.

Аспектите на изследване са химичен състав, растителен източник на прополиса, биологична активност, количествена характеристика на БАВ с цел стандартизация и качествен контрол.

• Прополис от Европа

От разработените проби от България, Италия и Швейцария въз основа на основни компоненти (ВЕТХ) и количества на 3 основни групи БАВ - феноли, флаванони/дихидрофлавоноли и на флаволи/флавоноли (спектрофотометрично) е показано, че с изключение на една проба от Италия всички са от тополов тип (4).

От тополов тип прополис (27) с български произход са изолирани 2 флавоноида и алифатни и ароматни ферулати и кафеати. 9-Оксо-10(Z)-октадекадиенова киселина е нов компонент за прополис. Установена е активност срещу бактериалния патоген *Paenibacillus larvae* на флавоноидите и ферулатите. Този резултат е още едно потвърждение за значението на прополиса като смес от природни вещества за пчелния кошер.

В прополис от Пермска област на Русия (29) са идентифицирани 60 компонента – флавоноидни агликони, ароматни киселини и техни естери. На базата на специфични таксономични маркери за първи път е дефиниран тип прополис от 3 източника – *P. nigra* (топола), *P. tremula* (трепетлика) и *Betula pendula* (бреза). Той може да бъде анализиран по методиката на тополовия прополис и

характеристиките му са в препоръчителните граници. Този прополис проявява биологична активност аналогична на тополовия.

Другите европейски произходи прополис, обект на изследване са от средиземноморския район.

От сицилиански прополис са изолирани 4 лабданови дитерпеноида, от които лабд-8(17)-диен-15-ол е намерен за първи път като природно вещество (3). За тези съединения е установена антибактериална активност и цитотоксичност срещу *A. salina*. Като предполагаем източник на този тип дитерпени е посочен представител на сем. Cupressaceae.

Изследвани е проби прополис от различни райони на Турция (8). Определени са 2 типа – единия типичен тополов (*P. nigra*) и друг с ниско съдържание на феноли и флавоноиди и присъствие на глицеролови естери, които са характерни за *P. euphratica*. Този вид за първи път се съобщава като източник на пчелен клей. Пониската антибактериална активност на тези проби потвърждава значението на черната топола като източник на БАВ.

При разработването на прополис от о-в Крит (20) са изолирани 5 нови, (охарактеризирани спектрално) и 18 познати природни съединения. Седем от известните вещества са регистрирани за първи път в пчелен клей. С изключение на 2 тритерпена и 1 флавоноид всички останали компоненти са дитерпеноиди. Повечето от изолираните съединения проявяват антимикробна активност.

Чрез ГХ/МС анализ е определен дитерпеновия профил на 6 проби прополис от Гърция (23), използвайки стандарти и интерпретиране на масспектри. От регистрираните 37 вещества 12 са нови компоненти за прополис. Дитерпените достигат 85.6% в една от пробите. Публикуваните масспектри и времената на задържане на регистрираните съединения са ценни за едно бързо охарактеризиране на прополис от дитерпенов тип.

Друг прополис богат на дитерпени е този от о-в Малта (24). От идентифицираните чрез ГХ/МС 32 индивидуални вещества 22 са регистрирани във всички изследвани 17 проби. В някои от тях обаче, са намерени и моно- и сескитерпенови естери на заместени бензоени киселини, отличаващи ги от другите средиземноморски произходи. Два дауканови естера на хидроксибензоени киселини са нови прополисови компоненти. Намерени са също флавоноиди и терпенилови естери на заместени бензоени киселини които са индикация че вид *Ferula* (предполага се *F. communis*) е един от източниците на този прополис. Установена е голяма близост в състава на средиземноморските проби от Гърция и Малта. Всички изследвани проби прополис проявяват активност срещу *S. aureus* а тези с високо съдържание на терпенилови естери срещу *C. albicans*.

За определяне на основния растителен източник на средиземноморския прополис са изследвани 17 проби прополис от Малта, 3 от о-в Гозо, смоли от *Cupressus sempervirens* и *Pinus halepensis*. Химичният профил на изследваните материали подкрепят хипотезата, че основен източник на прополис богат на дитерпени е *C. sempervirens* (26), посочен за първи път за прополисов източник.

- **Прополис от Северна и Южна Америка**

От Южна Америка е анализиран прополис от Венецуела (7, 10), Салвадор (9) и Бразилия (12). В прополис от тропическите гори на Венецуела (7) са изолирани

2 известни и 2 нови пренилирани бензофенони, охарактеризирани спектроскопски. Известните скробитулатони проявяват добра активност срещу *S. aureus* умерена срещу *A. salina* и слаба антиоксидантна. Други 3 проби от Венецуела (10) е установено, че дитерпени и пренилирани бензофенони са доминиращи групи вещества. Химическият профил на тези проби потвърждава, че основен източник на венецуелския прополис е някакъв вид *Clusia*, но дитерпените са индикация и за друг растителен източник в този район.

Изследвана е антиоксидантната активност на 2 халкона изолирани от прополис от Салвадор (9) и е показано, че са по-активни от наригенин (флавоноид) но по-слабо активни от кафеена киселина и токоферол.

От червен бразилски прополис, анализиран за първи път, са изолирани и идентифицирани 14 съединения – 5 фенилпропенови производни, 5 тритерпенови алкохоли, 2 изофлавоноида, 2 пренилирани бензофенона и 1 нафтохинонов епоксид (12). Последният е изолиран за първи път от природата, а 6 от съобщените вещества са нови за прополис компоненти. Като източник на червения бразилски прополис са посочени освен вид *Clusia* (пренилирани бензофенони) и някакъв друг растителен вид (изофлавоноиди). Биологичните тестове показват, че изофлавоноидите проявяват добра активност срещу *C. albicans* а пренилираните бензофенони срещу *S. aureus*. Последните са също важни антиоксидантни компоненти.

Известно е, че основни компоненти на бразилски зелен прополис са пренилирани заместени канелени киселини. С цел изследване на антиокислителния ефект при липидно окисление са синтезирани и тествани 4 съединения от този тип (2). 3-Пренил-4-хидрокси канелена киселина е с по-висока активност от п-кумарова и ферулова киселини.

ГХ/МС анализ на 2 проби прополис от различни райони на Канада (11) показва доста различен химически профил, но независимо от това показва че и двата са събирани от видове *Populus* но различни и то принадлежащи към различни секции – *P. trichocarpa* секция *Tacamahaca* и *P. tremuloides* секция *Leuce*. От регистрираните дихидрохалкони 3 са нови прополисови компоненти. Независимо от различния химичен състав и двата прополиса проявяват добра DPPH активност.

- **Прополис от Африка**

Изследван представител на африкански прополис е този от Кения. Намерени са два нови арилнафталени и 4 познати, но нови за пчелен клей фенолни съединения (22). Новите съединения са охарактеризирани спектроскопски. Изследваните 2 проби събрани от различни райони показват разлика в химичния състав. Познавайки се на таксономични маркери за пробата от Вой като вероятен източник е посочен видът *Macaranga schweinfurthii*. И двете проби показват слаба DPPH активност и са неактивни срещу *C. albicans* и *E.coli*. Останалите вещества, с изключение на арилнафталените, са активни срещу *S. aureus*.

- **Прополис от югоизточна Азия**

От Индонезия е изследван прополис събран от *Apis mellifera* подвид *mellifera*. Идентифицирани са 4 пренилирани флаванони, 3 циклоартанови тритерпени и за първи път от прополис 4 алк(ен)ил резорциноли в смес (25). Видовете *Macaranga*

tanarius и *Mangifera indica* са посочени като източници съответно на пренилфлаваноните и резорцинолите. Хлороформеният, и метанолен екстракт, и изолираните съединения не показват активност срещу *C. albicans* и *E. coli*. Хлороформеният екстракт проявява добра активност срещу *S. aureus* и само пренилираните флаванони са активни срещу DPPH радикалите.

- **Количествено охарактеризиране на БАВ**

Разработена е спектрофотометрична процедура за количествено охарактеризиране на БАВ в тополовия тип прополис. За валидиране е използвана моделна смес от вещества характерни за него. Предложен е ТСХ тест за предварително доказване на тополовия произход на пробите. Резултатите от предложения подход са потвърдени от ВЕТХ анализи (5).

Освен това тази процедура е приложена за охарактеризиране на 114 проби пчелен клей от тополов тип от различни географски райони Швейцария, България, Германия, Македония, Италия, Сирия, Иран и Турция (16). Направен е извод, че определяне на количеството на основните групи БАВ е по-подходящ подход за стандартизация отколкото количествата на индивидуални вещества. Въведени са параметри (минимално съдържание на восъци, феноли, флаванони/дихидрофлавоноли и флаволи/флавоноли) гарантиращи качеството на пчелния клей. Освен това, е предложено МІС срещу *S. aureus* да се включи като задължителен елемент в качествения контрол на прапалиса.

За прополиса от Тайван е известно, че съдържа пренилирани флавоноли. За първи път е приложен спектрофотометричен метод (с динитрофенилхидразин) за количествено определяне на тези съединения (21). За построяване на калибровъчна крива и валидиране на метода е използвана моделна смес от вещества изолирани от този тип прополис (*Macaranga*). Този метод е приложим за качествен контрол на тихоокеански прополис.

- **Обобщени данни върху прополис**

В публикуваните материали 6, 13, 15 (обзорни статии) и в 17, 28 (глави от книги) са обобщавани данни за различни периоди от време върху химичния състав на прополис от различни географски райони, биологична активност на екстракти и индивидуални вещества, хипотетични и химически доказани растителни източници на прополис, резултати относно качествен контрол и стандартизация.

В периода 2001-2012г. д-р Попова е участвала с 12 постерни съобщения, 8 доклада в 18 международни научни форуми.

Кандидатката е участвала в 5 проекта финансирани от ФНИ, МОМН, на един от които е била ръководител; 4 международни проекта – 1 по ЕБР, 1 извънпланов с Италия и 2 по 7 РП на ЕС; 9 международни договори с фирми и 1 договор с ИЖН-Костинброд.

За 24 от представените заглавия извън дисертационния труд са забелязани впечатляващ брой цитата - 497 съгласно приложения списък. Статиите влючени в дисертацията са цитирани 297 пъти. Цитиранията са предимно от чужди автори в международни и специализирани списения и дисертации. Това показва актуалността на проблема и високото ниво на получените резултати намерили широки отзвук сред международната научната общност. За високата оценка на

работата на д-р Попова говори и факта, че е търсена за рецензент от редица международни списания.

Д-р Попова е била консултант на 5 дипломни работи и 1 докторска дисертация и ръководител на 1 дипломна работа.

За 13 години стаж в ИОХЦФ г-жа Попова има значителна научна продукция с впечатляващи научни и научно-приложни приноси.

Заклучение:

По наукометричните показатели кандидатката отговаря на изискванията за присъждане на академичното звание «доцент» съгласно приетия «Правилник за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИОХ с ЦФ, БАН». С резултатите от задълбочените изследвания и изследването на химичния профил на прополис от различни райони, формулиране на растителните източници, приносите относно стандартизация на тополовия прополис, идентифицирането на множество съединения от различен структурен тип, определяне структурата на нови природни съединения доказват, че д-р Попова е един изграден изследовател.

Въз основа на направената преценка за значимостта на приносите от научната и научно-приложната дейност, както и цитируемостта на трудовете, препоръчвам на Уважаемите членове на Научното жури да предложи на Научния съвет към Института по органична химия с център по фитохимия към БАН да присъди на гл. ас. д-р Милена Попова академичната длъжност доцент по специалността «Биоорганична химия, химия на природните и физиологчно-активните вещества» - 01.05.10, за нуждите на лаб. ХПВ към ИОХЦФ, БАН.

17.11.2013

София

Рецензент:

/доц. д-р. М.Тодорова/