

РЕЦЕНЗИЯ

по конкурс за заемане на академичната длъжност „ДОЦЕНТ”, в професионално направление 4.2. „Химически науки”, по научната специалност “Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества – 01. 05. 10.”, обявен в ДВ бр. 48 / 31.05.2013 г. (с. 171).

С кандидат: д-р **Милена Петкова Попова** от ИОХЦФ при БАН.

Рецензент: проф. *Стефан Димитров Николов* дфн, Ръководител на катедрата по фармакогнозия и ботаника при Фармацевтичен факултет на МУ – София.

1. Биографични данни

Милена Попова е родена през 1974 г. в гр. Бяла, обл. Русенска, омъжена. Посвещава се на химията още през ученическите години. През 1993 г. завършва техникум по индустриална химия „Проф. Димитър Баларев” в гр. Русе със специалност „фин органичен синтез”. Висше образование завършва през 1998 г. в Химическия факултет на СУ “Св. Климент Охридски” с образователна степен магистър, специалност „химия и физика”, професионална квалификация, учител по химия и физика. От 1999 г. досега работи без прекъсване в ИОХ-ЦФ, БАН, отначало като химик, от 2001 г. до 2004 г. като научен сътрудник III ст. и от 2004 г. досега е главен асистент. През 2004 г. защитава дисертация на тема „Химичен състав и биологична активност на прополис от различни географски райони и видове пчели” под научното ръководство на ст. н. с. I ст. дхн Вася Банкова и получава образователната и научната степен “доктор”. Била е ръководител на един пост-докторски научно-изследователски проект и е участвала в 4 научно-изследователски проекти, финансирани от ФНИ и МОМН. Участие има и в 4 международни проекти и в 9 международни договори с фирми от Франция, Полша, Русия, Англия, Оман и Сингапур. Специализирала е краткосрочно в Италия и Македония и 8 месеца в Лабораторията по фармакогнозия и химия на природните вещества при Фармацевтичния факултет на Атинския университет, Гърция.

2. Описание и анализ на представените материали по конкурса.

В конкурса кандидатката участва със следната научна продукция: Отпечатани в пълен текст научни публикации общо 29 заглавия, съгласно “Списък на публикациите извън дисертационния труд и приложенияте “Копия от научните трудове”. От тях 26 са публикувани в международни научни списания. В Доклади на БАН е публикуван 1 труд /№ 14/. Четири от трудовете са научни обзори /трудовете №№ 6, 13, 14 и 15/, два от трудовете са глави от книги /труд №№ 17 и 28/. 20 от публикациите са отпечатани в списания с импакт фактор, като 18 от тях са в международни списания с импакт фактор и 3 в български списания, от които 2 с импакт фактор. Към материалите е приложен автореферат на дисертацията за получаване на образователната и научна степен “Доктор”, в който са включени 7 заглавия. Отделно е приложен списък на публикациите включени в дисертационния труд, състоящ се от 8 публикации означени от Д1 до Д8. Към документите по конкурса е приложен и списък за „Участие в научни конференции /конгреси/ /симпозиуми/ работни срещи” от „международни и национални мероприятия (лично участие)”, включващ 18 участия. От направения анализ на научната продукция на кандидатката се вижда, че материалите са представени правилно и коректно и най-вече научните публикации, които подлежат да

бъдат рецензирани. Така за рецензиране остават включените в списъка и приложените 29 научни труда.

3. Научна и научно-приложна дейност, научни постижения

Научно-изследователските и научно-приложните приноси са обобщени в няколко групи и подгрупи. По приложената от кандидатката “Справка за научните приноси” главните групи са две. Първата е най-обширна и се отнася до „Изследвания върху прополис”. Разделена е в три подгрупи: установяване на химичния състав и биологичната активност на прополис от различни географски райони и определяне на растителните му източници; разработване и валидиране на методи за количествено отчитане на биологично активни компоненти в прополис и обобщаване и сравнителен анализ на данни за прополис. Втората група включва „Изследвания върху лечебни растения и гъби” и се отнася до установяване на химичния състав на лечебни растения и гъби.

Изследванията от първата група се отнасят до 6 типа прополис: тополов тип прополис (от България); прополис от европейска Русия (Пермска област); прополис от средиземноморската област; прополис от Северна и Южна Америка; прополис от Африка и прополис от югоизточна Азия. На посочените типове прополис е изследван химичния състав за установяване на структурата на веществата, обуславящи биологичната му активност. За целта са използвани основни фитохимични подходи, като най-често използваните са ГХ-МС метод (след дериватизиране) и/или изолиране на индивидуални компоненти, структурата на които е определена с помощта на спектрални методи, като ЯМР, МС, УВ и ИЧ. Изследвани са различни растителни таксони, от които пчелите добиват прополиса, а също са проведени изследвания и за някои фармакологични действия на прополиса. Така за тополовия тип прополис (от България) фитохимичните изследвания довеждат до изолирането на 5 вещества (пиноцембрин, пинобанксин-3-О-ацетат, бензил и пентенил ферулати и 9-оксо-10(E)-12(Z)-октадекадиенова киселина, която е ново съединение за прополиса). Интересни са биологичните изследвания на тези вещества, които в смес от естери на кафеената киселина са тествани *in vitro* срещу патогенната бактерия *Paenibacillus larvae* - американски гнилец, който е причина за измиране на цели пчелни колонии. Като резултат е отчетена висока активност на тези прополисови компоненти срещу *P. larvae*, което ги определя като потенциални антимикуробни средства срещу пчелни патогени. Тези изследвания се публикуват за първи път и заслужават голямо внимание, тъй като са много актуални и могат да доведат до решаването на големия проблем с масовото измиране на пчелите през последните години (публ. №27).

За прополиса от европейска Русия (Пермска област) е установен, нов тип прополис с троен растителен произход: трепетлика-бреза-топола (*Populus tremula-Betula pendula-Populus nigra*). Фитохимично и тук са доказани флавоноиди. Направено е заключение, че пробите с по-високо съдържание на тези вещества проявяват по-висока антибактериална активност (публ. №29).

Третият тип прополис е от средиземноморската област. Анализирани са химичният състав и антибактериалната активност на прополис от различни райони на Турция, Сицилия, Гърция /остров Крит/ и остров Малта (вкл. о. Гозо). За пробата от Турция се твърди, че източник на прополис е *Populus euphratica*, който е широко разпространен в тези ареали. Като доказателство за това се посочват намерените глицеролови естери на фенолни киселини, които са хемотаксономични маркери за *Populus euphratica*. Тези данни се съобщават за първи път (публ. №8). За пробата от Сицилия, като вероятен източник на прополис се посочват видовете от семейство *Cupressaceae*. Основните компоненти, които са изолирани са дитерпенови киселини от

лабданов тип, заедно с дитерпенен алкохол лабда-8(17),13Е-диен-15-ол, изолиран за първи път от природен продукт. За дитерпените киселини е установена висока антибактериална активност, а за новия компонент висока цитотоксичност срещу ларви на *Artemia salina* (публ. №3). В тази публикация е описано формулирането на нов тип прополис от Европа – средиземноморски или дитерпенен съдържанието, на който се характеризира с наличието на биоактивни лабдани. Средиземноморски тип прополис се оказват и пробите от Гърция. От прополиса от остров Крит са изолирани и идентифицирани 23 съединения, 20 от които дитерпени (17 от лабданов, 2 от тотаранов и 1 от пимаров тип), заедно с 2 циклоартанови тритерпени и един флавоноиден гликозид. Пет от компонентите са нови природни съединения, два от които са лабданови естери на олеинова и палмитинова киселини. Седем от веществата са нови за прополис. Установено е, че дитерпените проявяват по-висока антибактериална активност, вкл. към орални патогени, докато тритерпените са най-активни срещу гъбички (публ. №20). За първи път е изследван прополис от остров Малта (вкл. о. Гозо), като е установено, че и той е представител на дитерпенения тип. Намерени са терпенилови естери на заместени бензоени киселини, 2 от които са нови за прополиса компоненти. Тези естери са характерни за *Ferula communis* (Apiaceae), който е широко разпространен в Малта и е определен като вторичен растителен източник (публ. №24). След анализ на химичния състав на смола от кипарис *Cupressus sempervirens* и бор *Pinus halepensis*, събрани от Малта, е доказано, че смолистите секрети са богати на дитерпени и са основната активна съставка на средиземноморския прополис. На базата на тези резултатите се твърди, че кипарисът *C. sempervirens* (Mediterranean Cypress) е основният и/или единствен растителен източник на средиземноморския тип прополис и за първи път се доказва, като източник на прополис (публ. №26). Охарактеризирането на средиземноморския тип прополис е от съществено значение за неговата стандартизация и качествен контрол, поради което високо оценявам научните приноси на кандидатката в тази част от нейните изследвания.

Следващият изследван тип прополис е от Северна и Южна Америка. От Северна Америка за първи път е изследван прополис от Канада, от района на Виктория (крайбрежни тихоокеански гори). Установено е, че източник на прополис от канадската тайга и за по-хладните райони на северна Америка е бялата топола *Populus tremuloides* (секция *Leuce*), отличаваща се главно с наличие на ароматни киселини. За първи път като източник на прополис са посочени смолистите ексудати на тополи от секция *Tacamahaca*, в частност *Populus trichocarpa*. В проба, са намерени дихидрохалкони, три от които нови за прополис. (публ. №11). От Южна Америка е изследван прополис от Салвадор, Венецуела и Бразилия. От прополиса от Салвадор са изолирани 2 нови природни халкони с антиоксидантната активност (публ. №9). За прополиса от Венецуела е установено, че произхода му е от смолистите секрети от два растителни източника, единият от които е *Clusia scrobiculata*. По отношение на химичния състав е установен сходен ГХ/МС профил с основни компоненти ди- и тритерпени, и пренилирани бензофенони. От последните са изолирани и структурно охарактеризирани, две нови природни вещества (18-етилокси-17-хидрокси-17,18-дихидроскробукулатон А и В) с биологична активност (публ. №7 и 10). Прополисът от Бразилия е най-изследваният тропически прополис. За него са формулирани няколко типа, сред които най-добре проучения е зеленият тип. Неговите основни компоненти са пренилирани производни на заместени канелени киселини (публ. №2). За първи път е анализиран химичният състав на червен прополис от Бразилия, за който се оказва, че е нов тип. Изолирани са 14 компонента: производни на фенилпропена, изофлавоноиди, пренилирани бензофенони и тритерпени, заедно с 1 нафтохинон, който е ново

природно съединение. Тритерпенов кетон и сместа от производни на фенилпропена са нови за прополиса вещества. Доказана е и биологична активност (публ. №12).

От прополиса от Африка е изследван съставът на 2 проби от Кения, които се отличават с различен химичен профил (ГХ/МС, ТСХ) от известните типове прополис. Изолирани са 3 арилнафталенови лигнани, 2 от които са нови природни компоненти, а 1 е изолиран за първи път от прополис. Прави се извода че намерените лигнани могат да послужат като маркери при определяне на растителния източник на пробата. Вероятен растителен източник на прополис е намерен в проба от източна Африка, от която са изолирани 2 геранилстилбена и 1 геранил флавонол. Те са са нови за прополиса съединения и са характерни за *Macaranga schweinfurthii*, който е широко разпространен храст в източна Африка (публ. №22).

Шестият изследван тип прополис е от югоизточна Азия /о. Ява и Индонезия/. Изолирани са алкил и алкенил резорциноли, които са нови за прополиса, и пренилирани флаванони и тритерпенови хидроксикиселини от циклоартанов тип - общо 11 компонента. И тук на базата на химичния състав се прави опит за установяване на растителния източник на прополиса. Геранил флаваноните са характерни за смолистия повърхностен секрет на плодовете на дървото *Macaranga tanarius*, докато източникът на циклоартановите киселини е *Mangifera indica* (манго) (публ. №25).

Научно-приложни приноси се откриват и във втората подгрупа, свързани с разработване и валидиране на методи за количествено определяне на биологично активни компоненти в прополис и най-вече с опитите за разработване на стандарти за типовете прополис. Така за тополов тип прополис са развити и валидирани спектрофотометрични методи за количествено отчитане на трите основни групи биологично активни компоненти: общи феноли, общи флаволи и флавоноли, общи флаванони и дихидрофлавоноли при подходящо подобрени стандарти (публ. №5). Преди да се използват тези методи е необходимо да се докаже типа на прополиса, за което е разработен тънкослойно хроматографски тест, основан на използването на смес от 7 компонента, таксономични маркери за видове *Populus* и предимно за *P. nigra* (публ. №4). Разработените процедури са приложени за окачествяване на 114 проби от тополов тип прополис от различен географски произход и получените резултати гарантират добро качество на продукта за приложение в хранителната и фармацевтичната промишленост. За първи път е отчетена статистически значима корелация между съдържанието на общи феноли в балсам и антибактериална активност (публ. №16). Валидиран спектрофотометричен метод е използван за първи път за определяне на пренилирани флаванони, които са основните активни вещества в тихоокеански тип прополис (от Тайван и Окинава). Методът е подходящ за окачествяването на този тип прополис (публ. №21).

Третата подгрупа приноси, според справката включва обобщени и сравнителни данни за прополис, които са представени като обзорни трудове, публикувани в научни списания и книги (по покана) (публ. №№ 6, 13, 15, 17 и 28).

Втората група приноси включва „Изследвания върху лечебни растения и гъби”. Тук кандидатката се изявява в друга област на фитохимията – алкалоидите и в нова област на фенолните съединения – кумарините. Охарактеризиран е алкалоидният състав на листа от африканския вид *Uvaria chamae*, който е използван в традиционната медицина, като средство против малария. За първи път от рода се изолират бензилизохинолинови алкалоиди. Други три апорфинови алкалоиди са нови за вида (публ. №1). От плодовете на *Angelica lucida* (Аріасеае) са изолирани и идентифицирани пет нови за вида фуранокумарини. Счита се, че тези компонентите са активни срещу серия от бактерии, вкл. орални патогени (публ. №19). В обзорната публикация № 14 са

събрани и обобщени данните, за химичния състав и биологичната стойност на лозови листа (*Vitis vinifera*) като са посочени някои от компонентите, които оказват влияние за устойчивостта на лозите към патогени. За първи път е изследван химичният състав на защитената дървесна гъба *Fomitopsis rosea*. Изолирани и идентифицирани са тритерпени, 2 от които са нови природни съединения - ланостанови киселини с оксепанов пръстен. На базата на тритерпените съединения е направен опит за хемотаксономична връзка между двата рода дървесни гъби *Fomitopsis* и *Daedalea* (публ. №18).

От направения анализ на научните и научно-приложните приноси на кандидатката изпъкват съществени научни постижения, особено в химията на важния и все още недостатъчно проучен природен продукт – прополис. Твърдо е убеждението ми, че в тази област тя е вече изграден и водещ специалист на световно ниво. От проведените изследвания върху прополиса изпъкват не само задълбочените познания, но и съществените научни и научно-приложни приноси в областите на фитохимията, хемотаксономията, методите за качествения и количествения анализ на биологичноактивните вещества и прилагането им в решаването на главния за практиката проблем – стандартизацията на природните продукти. Оценявам приносите като новост за науката, особено тези, свързани с откриването на многобройните нови за науката природни вещества и опитите за установяване на биологичната им активност. Има приноси с потвърдителен характер и приноси на приложение на научните постижения в практиката, чрез описаните методи за изследване.

4. Отражение на научните публикации в литературата

Кандидатката е представила 2 списъка за цитирания: „Списък на забелязаните цитати на публикации извън дисертационния труд” и „Списък на забелязаните цитати на публикации включени в дисертационния труд”. По първия списък общо са забелязани 497 цитирания на 26 труда, а по втория списък 297. Този брой цитати е впечатляващ и показва, че почти цялата научна продукция на кандидатката е намерила отражение в научната литература. Някои публикации са цитирани по над 70 – 80 пъти (публ. №№ 5, 8, 12). Коректно са отделени цитиранията в дисертации, които са около 20 броя. От прегледа на публикациите, в които са цитирани трудовете на кандидатката се вижда, че почти всички са публикувани в списания с импакт фактор и са от чуждестранни автори. Тези факти достатъчно добре показват широкия отзвук на трудовете на гл. ас д-р Попова сред научната литература и признанието ѝ като изграден специалист сред международната научна общност. Това се потвърждава и от факта, че тя е търсен за рецензент в редица реномирани научни списания като *Talanta*, *Phytochemistry*, *Natural Product Research*, *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, *Journal of Natural Products* и др.

5. Критични бележки и препоръки

След критичното преглеждане на цялата документация по конкурса, съществени пропуски не открих. По-горе се спомена за коректния начин и вид на представените документи по конкурса. Бележките, които биха могли да се направят, са предимно от технически характер и се отнасят до някои доуточнения. Например, в голосеменните растения каквито са представителите на сем. *Cupressaceae* и *Pinaceae* смолистите канали са изпълнени не със смола, а с балсам. Специално за всички представители на сем. *Борови* това е терпентиновия балсам, който съдържа смолата колофон и терпентиновото етерично масло. Препоръчам на кандидатката да задълбочава работата си по хемотаксономия и да търси по-характерни хемотаксономични маркери, за да бъдат по-достоверни твърденията ѝ за растителните източници на прополиса.

Например по убедително за източник на прополис е да се посочват дихидрохалкони, отколкото ароматните киселини, които често се срещат в растенията. Също рисковано е да се посочват само конкретни растителни видове, тъй като веществата, по които се съди за растителния произход на прополиса, едва ли ще са характерни само за отделен вид. Те се срещат и са характерни и за други видове от същия род и дори за цели растителни семейства и със сигурност за в бъдеще ще се откриват нови типове прополис с троен, четворен и т.н. растителен произход. На кандидатката може да се препоръча още да засили работата със студенти, дипломанти и докторанти. Липсата на съществени критични бележки се обяснява, че трудовете са публикувани в специализирани, реномирани, международни научни списания, след прецизни рецензии от водещи специалисти и направените забележки в никакъв случай не намаляват високата оценка на научните приноси.

6. Педагогическа дейност

От приложения списък се вижда, че през 2010 г. кандидатката е ръководила един дипломант от Химическия факултет на СУ "Св. Климент Охридски". През 2006 г. е била научен консултант на докторант от ИОХЦФ - БАН. Била е още консултант на 5 дипломанти, предимно от специалност „Органична химия” при Химическия факултет на СУ и от специалност Химия при ЮЗУ „Неофит Рилски” – Благоевград.

7. Лични впечатления

Не познавам кандидатката, но от рецензираните материали изпъква нейното постоянство и проявена целенасоченост и упоритост в научното ѝ израстване. Липсва кампанийност и стихийност в развитието ѝ. От 2000 г. до сега няма пропусната година без отпечатване на 2-3 научни труда. За този кратък период от време тя е постигнала значителни резултатите. За първи път в прополиса са изолирани и идентифицирани над 120 компонента, голяма част от тях са нови за науката природни съединения. Впечатляващи са и наукометричните показатели – общо 794 забелязани цитирания, публикувани научни обзори /по покана/, участия в написване на глави от книги, ръководител и участник в наши и международни научно-изследователски проекти и международни договори с фирми и др.

8. Заключение

В конкурса за получаване на академичната длъжност „доцент” в професионално направление 4.2. „Химически науки”, по научната специалност “Биоорганична химия, химия на природните и биологичноактивни вещества – 01. 05. 10.” участва един кандидат, гл. асистент д-р Милена Петкова Попова от ИОХЦФ при БАН. Като вземам в предвид направената в рецензията преценка на научната продукция на кандидатката, научните приноси, значимостта на научно-приложните разработки, отзвук в научната литература правя следното заключение. Гл. асистент д-р Милена Попова напълно отговаря на изискванията и препоръките на ИОХЦФ при БАН за получаване на академичната длъжност „доцент”. Представените факти от документите по конкурса, дават основание с научна удовлетвореност да препоръчам на Уважаваните членове на Научното жури по Органична химия при ИОХЦФ да предложи на Научния съвет на ИОХЦФ да присъди академичната длъжност „доцент” на гл. асистент д-р Милена Петкова Попова.

София, 12. 11. 2013 г.

Рецензент:

/ проф. дфн Стефан Николов/