

РЕЦЕНЗИЯ

от д-р Анели Методиева Неделчева – професор в СУ „Св. Климент Охридски“, Факултет по химия и фармация

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3 Биологически науки; докторска програма: Ботаника

Автор: Цветелина Руменова Младенова

Тема: „Фитохимично и биологично проучване на редки етеричномаслени и лекарствени растения от Природен парк Българка“

Научни ръководители: доц. д-р Пламен Стефанов Стоянов – Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ и доц. д-р Анелия Веселинова Биволарска – Медицински университет – Пловдив.

1. Общо описание на представените материали

Със заповед №Р33-1534 от 05.05.2021г. на Ректора на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема „Фитохимично и биологично проучване на редки етеричномаслени и лекарствени растения от природен парк Българка“ за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Ботаника. Автор на дисертационния труд е Цветелина Руменова Младенова – докторантка в редовна форма на обучение към катедра „Ботаника и методика на обучението по биология“ с научни ръководители доц. д-р Пламен Стефанов Стоянов от Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ и доц. д-р Анелия Веселинова Биволарска от Медицински университет - Пловдив.

Представеният от редовен докторант Цветелина Руменова Младенова комплект материали е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ и включва следните документи:

– молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд;

- автобиография в европейски формат;
- протокол от катедрения съвет, свързан с докладване на готовността за откриване на процедурата и с предварително обсъждане на дисертационния труд;
- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- копия на научните публикации;
- справка за покриване критериите на Биологически факултет в направление 4.3 Биологически науки за придобиване на ОНС „доктор“;
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи (представена към дисертационния труд)

Докторантката е приложила 4 (четири) броя научни публикации. Всички документи и материали са изготвени коректно и прецизно.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Цветелина Руменова Младенова придобива квалификация „Магистър по специалност Медицинска биология“ в Биологически факултет на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ), след период на обучение 2015 – 2017 година. Член е на колектива на Биологически факултет – ПУ от 2017 година досега, като заема длъжността „биолог“ последователно в катедра „Анатомия и физиология на човека“ и катедра „Ботаника и методика на обучението по биология“. В катедра „Ботаника и методика на обучението по биология“ провежда и обучението си като редовен докторант в докторска програма „Ботаника“.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Последните десетилетия се характеризират с интензивни изследвания в областта на биоразнообразието и консервационните мероприятия за запазване на генетичния фонд от лечебни растения. Едновременно с тази насока са изследванията върху фитохимичния профил на видовете с лечебни качества и върху тяхната биологична активност. Тези направления са в основата на съвременните стратегии и технологии за опазване на човешкото здраве и устойчиво използване на биоресурсите. В основата на разбирането и управлението на тези процеси стои познаването на видовете растения като биологичен обект. Този актуален мултидисциплинарен подход при изследване на природните източници на биологично активни съединения е в основата на дисертационния труд. Изследвани са видове от територия с консервационна значимост – природен парк „Българка“, част от неговата флора и природни местообитания. Подбраните обекти са видове със статут „български ендемит“, а именно *Micromeria*

frivaldszkyana (Degen) Velen. (фривалдскиева микромерия) и *Betonica bulgarica* Degen & Nejceff (български ранилист). Това са и таксони, принадлежащи към родове, които включват представители използвани както в народната медицина, така и със съвременни данни за терапевтичен ефект на изолирани от тях биологично активни съединения. Двата вида не са проучвани като лечебни растения. В допълнение, таксоните са с противоречиво представяне в съвременни бази данни. Поставената цел „биологично проучване на видовете *Micromeria frivaldszkyana* и *Betonica bulgarica*, разпространени в Природен парк „Българка“ и изследване на техния фитохимичен състав и биологични активности“, както и поставените задачи (теренни проучвания, анатомичен анализ, молекулярно-генетично и фитохимично проучване и изследване на биологичната активност) са точно формулирани и отразяват цялостната идея на научното проучване.

Тези факти очертават тематиката на предложеното изследване като актуална, навременна и с възможност за получаване на резултати както от научно фундаментален характер, така и с практическо приложна значимост.

4. Познаване на проблема

Представеният литературен обзор обхваща характеристика на проучваната територия – природен парк „Българка“ (местоположение и характеристика), както и преглед на известното досега в научната литература относно флористичния състав и местообитанията в защитената територия. Данните са анализирани и представени с фокус върху етеричномаслените и лечебни растения. Анализът е представен в хронологичен ред, като докторантката умело съчетава представянето и анализирането на проучванията на защитената територия в исторически аспект, с описването и проучванията на българските ендемити *Micromeria frivaldszkyana* и *Betonica bulgarica*. Относно фитотерапевтичните свойства са представени данни за род *Micromeria* и род *Betonica*, известни от традиционната медицина и от съвременни изследвания, което дава възможност за дискусия на резултатите и формиране на заключения в по-късен етап на дисертационния труд. Известното относно фитохимичните проучвания е представено по групи химични съединения (фенолни киселини и флавоноиди, етерични масла, органични киселини и минерални вещества). Представена е обобщаваща таблица относно структурите на установените фенолни съединения, за които има по-обширни данни в научната литература. Представена е информация както за групите химични съединения, така и данни относно известното за сем. Lamiaceae, род *Micromeria* и род *Betonica*, както и конкретно за проучваните видове. Този подход е използван и при представяне на информацията относно биологичната активност на фенолните съединения (антиоксидантна, антимикробна, антивирусна и антитуморна активност) и относно методите за оценка на генетичното разнообразие при растенията.

От гореизложеното следва, че докторантката добре познава обектите на проучване и умело и аналитично борави с научната литература.

5. Методика на изследването

Използвани са класически методи за събиране и камерална обработка на растителния материал, изготвяне на ваучерни хербарийни образци и микроскопско и анатомично изследване. Приложени са и съвременни молекулярни методи за изследване на растенията (изолиране и пречистване на тотална ДНК, определяне на количеството и качеството на изолираната тотална ДНК, конвенционален PCR, екстракция на PCR продукти от агарозен гел). Приложена е умело подобрена комбинация от класически и съвременни методи при фитохимичния анализ (HPLC анализ, газова хроматография, микроелементен анализ, чрез ICP-MS, определяне на антиоксидантна активност с няколко метода - електрохимичен метод, ORAC, HORAC и чрез определяне активността антиоксидантен ензим - супероксид дисмутаза, както и при проучването на биологичната активност от екстракти (антимикробна и антивирусна активност върху херпес симплекс вирусни щамове и определяне на инфекциозния вирусен титър, инхибираща концентрация (IC50) и селективен индекс (SI); *in vitro* тестове за цитотоксичност и антитуморна активност върху седем адхерентни клетъчни линии, човешки: *HeLa* – цервикален аденокарцином, *A 549* - белодробен карцином, *FL* - амниотични нормални клетки, *HT-29* - колоректален аденокарцином и карциномни миши клетъчни линии: *RAW 264.7*, *NIH/3T3* и *LS48*.

Подбраните методи са в съответствие с поставените цел и задачи на научното проучване и дават възможност за получаване на представителни научни резултати, както и изпълнение на изследването в срока на редовната докторантура. Представени са значителен брой и разнообразни методи. Докторантката демонстрира познаване на приложените методи.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Представеният дисертационен труд се състои от 124 страници текст, включително 35 фигури (карти, снимков материал, схеми, диаграми, микрофотографии, хроматограми) и 17 таблици. Структурата следва изискванията за представяне на научно изследване и включва следните основни части: Литературен обзор (24 стр.), Цел и задачи на дисертационния труд (1 стр.), Материали и методи (21 стр), Резултати и обсъждане (43 стр.), Изводи (3 стр), Приноси (1 стр.), както и Цитирана литература (18 стр.). Към дисертационния труд са включени участията в научни форуми, публикациите по темата на дисертацията и декларацията за оригиналност. Отделните части са коректно представени и балансирани като обем и съотношение. Докторантката е представила описание на методите, реактивите, основните използвани термини и използваната техника. Списъкът на литературните източници е от 14 заглавия на български

език и 64 от чуждестранни автори, обхващащи период от 1806 до 2021 година. Работата е представена в кратък и информативен научен стил, с правилно използване на научната терминология. Фигурите и таблиците, както и литературният списък са оформени прецизно, съгласно изискванията за научен текст.

Използван е достатъчен като обем и структура материал за научното изследване. Обосновката за сравнителните изследвания (*Micromeria frivaldszkyana*/ *Clinopodium vulgare*) е коректно представена в дисертационния труд. Докторант Цветелина Младенова демонстрира умения за описание на експериментално изследване в научен труд, доказателство за което са и представените научни публикации.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

В резултат от проведеното проучване, направените обобщения и изводи, докторантката формулира две групи приноси: оригинални научни приноси и научни приноси с приложен характер. **За първи път** е проведен сравнително-анатомичен анализ на епидермис и установена характеристиката на епидермалните структури при *Micromeria frivaldszkyana* и *Clinopodium vulgare*. **За първи път** молекулярно-генетично са охарактеризирани българските ендемити *Micromeria frivaldszkyana* и *Betonica bulgarica*. **За първи път** са представени данни относно фитохимичния състав (обща захари, органични киселини, микроелементи и сесквитерпени) и антиоксидантната, антибактериална и антивирусна активност на екстракти от *Micromeria frivaldszkyana* и *Betonica bulgarica*. **Депозираният материал** (секвенции от изследваните видове - MW743275, MW762672 и MW743274, MW762670) в базата данни на National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine предоставя възможности за бъдещи генетични изследвания върху тях от изследователи в световната научна общност.

С **приложно** значение е установения специфичен антитуморен ефект на екстрактите от *Micromeria frivaldszkyana* и *Betonica bulgarica* спрямо цервикални карциномни клетки, който демонстрира възможността за приложението им като източник на активни съставки в лекарствени продукти при превенция и терапия на някои видове онкологични заболявания, както и на такива с антивирусен ефект. Резултатите от биологичното проучване са от значение при бъдещо култивиране на видовете. Данните за лечебното растение *Betonica officinalis* може да се използват като обект за демонстриране на покривни и отделителни структури при растенията, част от практическо обучение по учебната дисциплина „Фармацевтична ботаника“.

Проведеното проучване, представено в дисертационния труд, демонстрира потенциала на ендемичната българска флора като източник на генетичен материал за получаване на биологично активни вещества с терапевтичен ефект и за разработване на конкурентноспособни фитопродукти.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Резултатите от дисертационния труд са представени в 4 четири научни публикации, публикувани през периода 2018-2021 година. Всички статии са публикувани в съавторство с научен колектив, на английски език. Във всички публикации докторант Цветелина Младенова е първи автор. Публикациите отразяват конкретни резултати постигнати в дисертационния труд, което е доказателство за приноса на докторантката. Една от статиите (Mladenova et al. 2018) е публикувана в сборник от национален научен форум National Scientific Conference „15 Years of Pharmacy in Medical University - Plovdiv“. Останалите публикации са в научни издания, реферирани и индексирани в световните научни бази данни, както следва *Ecologia Balkanica* (Q4, SJR₂₀₁₉ 0.134), *Separations* (Q3, SJR₂₀₂₀ 0.485) и *Plants* (Q1, SJR₂₀₂₀ 0.892).

Данните от научните изследвания са представени с постерни презентации на два научни форума: Национална научна конференция „15 години фармация в Медицински университет – Пловдив“ (2018) и 4th World Congress and Expo on Pharmaceutics and Drug Delivery Systems, Milan, Italy (2019).

9. Лично участие на докторантката

Представените материали по процедурата, както и представената декларация за оригиналност на представените данни, показват, че теренните и лабораторни изследвания в дисертационния труд са проведени с личното участие на докторант Цветелина Младенова. Представеният дисертационен труд, формулирането на изводите и приносите са нейна лична заслуга.

10. Автореферат

Авторефератът е структуриран според изискванията и коректно отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

11. Критични забележки и препоръки

Забелязани са единични неточности, които по същество не променят общото положително впечатление от работата и постигнатите резултати.

12. Лични впечатления

Не познавам и нямам лични впечатления от докторантката.

13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Двата български ендемита *Micromeria frivaldszkyana* и *Betonica bulgarica*, както е отбелязано и в дисертацията, са с противоречиво представяне в световните бази данни. В принос

към изясняване и утвърждаване на техния статут на „български ендемити“, какъв подход би използвала докторантката при възможност за бъдещи изследвания на база анализ на получения опит от настоящето проучване и публикуваното досега в научната литература: подбор на таксони, методи на изследване и др. Проведеното проучване, представено в дисертационния труд демонстрира потенциала на видовете *Micromeria frivaldszkyana* и *Betonica bulgarica* като източник на биологично активни вещества с терапевтичен ефект.

Препоръчвам на докторантката да продължи изследванията си в посока подбор на генетичен материал за използването им в практиката като лечебни растения и същевременно съхранение на естествените популации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“. Представените материали и дисертационни резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на Биологическия факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантката Цветелина Руменова Младенова притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност „Ботаника“ като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна** оценка за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на Цветелина Руменова Младенова** в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление **4.3 Биологически науки**, докторска програма **Ботаника**.

09 юни 2021 г.

гр. София

Рецензент:

проф. д-р Анели Неделчева