

## РЕЦЕНЗИЯ

от доц. д-р Златка Милчева Алексиева

Институт по микробиология „Стефан Ангелов”, БАН

Относно: Научната продукция на доц. д-р Милен Георгиев за участие в конкурс за присъждане на академичната длъжност „Професор” за нуждите на лаборатория „Метаболомика”, Департамент „Биотехнология”, ИМикБ-БАН по професионално направление 5.11. Биотехнология. Конкурсът е обявен в ДВ бр. 47/22.05.2020

Доц. д-р Милен Георгиев е единствен кандидат, подал документи за участие в обявения конкурс. Представени са всички необходими документи съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав и Правилника на Институт по микробиология – БАН за неговото прилагане.

### ПРОФЕСИОНАЛНА БИОГРАФИЯ

Милен Георгиев получава магистърска степен в Университет по Хранителни Технологии, Пловдив, България, където е студент т 1996 до 2001 г. със специалност „Биотехнология“.

След конкурс, през 2002 г. М. Георгиев става редовен докторант в Институт по микробиология “Стефан Ангелов” (ИМикБ) на БАН и след успешна защита през 2005 г. става постдокторант по програмата „Мария Кюри“ в Институт по Хранителни Технологии и Биопроцесорно Инженерство към Технически Университет на Дрезден, Германия. През 2007 е назначен като Научен сътрудник I ст. в Институт по микробиология – БАН. От 2010 до 2012 г. е постдокторант по програмата „Мария Кюри“ в Институт по Биология, Университет на Лайден, Нидерландия. От 2010 г. заема научната длъжност „Доцент“ в Институт по микробиология – БАН, която заема и по настоящем. От 2020 г. е назначен за Ръководител на лаборатория по метабономика. Доц. М. Георгиев е бил гост-изследовател в Институт по Ботаника, Технически Университет на Дрезден, Германия (2014 г.). Ръководител на проект SuSMAPWaste в Университет по Агрономически Науки и Ветеринарна Медицина, Букурещ, Румъния (от 2016 до момента). Ръководител е на департамент Център по Растителна Системна Биология и Биотехнология, Пловдив, България (от 2017 до момента). Владее на високо ниво, писмено и говоримо, английски език и руски език – основно ниво.

Доц. М. Георгиев е член на Научия съвет на Институт по микробиология – БАН от 2019 г.

Трябва да се отбележи и обширната му експертната му дейност: Съредактор на списания Phytomedicine (Elsevier), Food and Chemical Toxicology (Elsevier) и Food Frontiers (Wiley); Член на редакционната колегия на списания Biotechnology Letters (Springer), Chinese Medicine (Springer) и Molecules (MDPI); Ad hoc рецензент/докладчик за Европейска Комисия, Австрийски, Полски, Румънски и Латвийски Фондове за Научни Изследвания; Рецензент на дисертации за Университети във Франция, България, Пакистан, Индия и Малайзия; Рецензент за редица реферирани научни списания. Член е на Европейска Федерация по Биотехнологии, Българско Фитохимично Сдружение, Асоциация по медицински и ароматни растения на страните от Югоизточна Европа (AMAPSEEC) и Фитохимично Дружество на Европа (PSE).

### ПРЕПОДАВАТЕЛСКА ДЕЙНОСТ

Доц. М. Георгиев води Специализиран курс лекции по „Метаболомика“, Биологически факултет, Пловдивски Университет. Ръководител е на 3-ма докторанти, 5 дипломанти и 9 практиканти.

## ОСНОВНИ НАУКОМЕТРИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ

Доц. М. Георгиев представя за настоящия конкурс научната си продукция, която може да бъде систематизирана според минималните национални изисквания към научната и др. дейности на кандидатите за заемане на академичната длъжност "професор".

Милен Георгиев е представил Автореферат на дисертационен труд за присъждане на ОНС „Доктор” на тема: „Възможности за повишаване добива на розмаринова киселина от клетъчна култура *Lavandula vera* MM” с което покрива изискванията по група показатели А.

Към изискванията по група В, кандидатът е представил 28 научни публикации, отпечатани след придобиването на научната длъжност „Доцент”. Те са публикувани в престижни международни научни издания, реферирани и индексирани в световни бази данни Scopus и Web of Science (19 - Q1; 7 - Q2; 2 - Q4). Общият им ИФ е 90.287. = 15.653). Това резултира в 639 точки, при изискуеми минимум 100 в Правилника за прилагане на Закона в РБ в Институт по Микробиология - БАН.

По групата от показатели Г са представени 26 журнални публикации (21 бр. - Q1; 4 бр. - Q2; и 1 бр. - Q3; Общ IF = 142.363) и 3 глави от книги, в издания, реферирани и индексирани в световноизвестни база данни. Като краен резултат, кандидатът набира **665** точки при изискуеми в Правилника на Института минимум **200** точки. Както се вижда, доц. Милен Георгиев се отличава със значително превишение на националните минимални изисквания относно критерия, пряко отразяващ активната му научно-изследователска дейност.

По група показатели Д, към показател Д11 „Цитирания в научни издания, монографии, колективни томове и патенти, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus)” е представен списък на **45** цитирани статии от представените за оценка в конкурса, с общо **1057** цитирания. Изчисленията показват, че доц. Георгиев набира **2114** точки, при изискуеми минимум **100**. Този резултат ясно доказва широката международна известност и значимост на научните резултати и достижения на автора.

Данните на кандидата по показателите от група Е в най-висока степен надхвърлят минималните национални изисквания. Доц. Георгиев е ръководител на 2 международни и 3 национални научни проекти, и участник в 3 национални и 3 международни научни проекти. Впечатляваща е цифрата на привлечени средства в резултат от тези проекти – **6 770 000 лв.** Само този показател носи **1354 т.**, при изискуем минимум от **150 т.**

В заключение може да се види, че сумата от минимално изискуемите според ЗРАСРБ 600 точки, е над **8 пъти надвишена**. Общият брой точки набрани от доц. М. Георгиев е **5072 т.**

За цялостната си научна дейност доц. Георгиев е публикувал общо 130 научни публикации, участвал е в 12 проекта и е ръководил 5 проекта. Участвал е в 67 национални и международни научни форуми, в 30 от които като поканен лектор. Бил е член на 13 организационни комитети на международни конференции, председател на Орг. комитет на международна научна конференция (ICNPU), съредактор е на 3 и член на 3 чуждестранни редколегии, за които стана въпрос по-горе. Рецензирал е множество статии за различни международни научни списания и дисертации. По данни от информационната база данни Scopus, д-р М. Георгиев има над 2500 цитирания и съответно Н-индекс – 25, а Импакт-фактора над 390.

Трябва да отбележа, че кандидатът е подал Справката за изпълнение на изискванията според ЗРАСБ, съответно с изискванията на Институт по микробиология на БАН, където изискуемият набор от точки, както за Област 4 Природни науки (4.3. Биологически науки), така и за Област 5 Технически науки (5.11. Биотехнологии) са унифицирани. Ако точките от

информацията, подадена в документите по настоящия конкурс бъдат преизчислени според изискванията на ЗРАСБ за Технически науки (при което коефициентът за статиите е разделен поравно между съавторите), то сборът им е още по-висок. Показател В - **278.57 т.**; показател Г - **273,74 т.**; показател Д – **10570 т.** и показател Е – **1584 т.**, или общо - **12 756.31 т.**

Представените данни доказват достатъчно убедително, че доц. М. Георгиев значително надвишава националните изисквания за заемане на научната длъжност „професор“.

Относно „**Допълнителни критерии за израстване на академичния състав в ИМикБ**“ също може да се отбележи, че критериите са преизпълнени. Напр. изискването в критерий „Брой публикации в списания с IF, монографии, глави от монографии, сборници публикувани в пълен текст, патенти“ е 20 бр. (след „доцент“) в 16 от тях водещ или кореспондиращ автор. Кандидатът е представил в пълен текст **57** съответстващи научни публикации, в **6** от които е първи автор и в **27** публикации – кореспондиращ автор. По следващият критерий „Цитати“ се изискват 400 за цялата научна кариера, а кандидатът представя над 2500 цитирания, Изискването за H фактор е 10 за целият научен стаж, а общият H фактор на М. Георгиев е 25. Относно броят на ръководените научно-изследователски проекти, както и на участието в такива, подробно е казано по-горе, но надвишените изисквания са неоспорими. Доц. Георгиев е ръководител на 3-ма докторанти, единият от които е минал успешно вътрешна защита. Това е единственото условно разминаване с изискванията на институтските допълнителни критерии, което предстои да бъде изцяло изпълнено. В тази връзка мога да посоча отбелязаното в частта Забележки към правилника под т. 7 - Системата създава възможност за сумирането на коефициентите в рамките на една група показатели, така че да се извършва вътрешна компенсация и недостигащите точки от един показател да се допълват с точки от друг. В даденият случай, впечатляващото преизпълнение на множеството други показатели, не дава възможност да има колебания за съответствието на кандидата с изискванията за научна длъжност „Професор“ в И-т по микробиология на БАН. Следващо потвърждение на това е, че при проведената тази година атестация на всички учени по показатели, определящи научният им принос по т.нар. Компонент 2 за бюджетното финансиране на Института от БАН, доц. Георгиев зае първото място.

Потвърждение са и трите награди Питагор (2011 г., 2015 г. и 2020 г.), награда Марин Дринов на БАН за млади учени (2009 г.) и диплом за високи научни постижения от УС на БАН (2018 г.), както и 7 награди по Проектът SusMAPWaste.

От 2013 г. като председател на организационния комитет Доц. Георгиев участва в организирането на Международна конференция по рационално оползотворяване на природни продукти: от растението до фармацевтичната лавица. Последното издание на конференцията (4th International Conference on Natural Products Utilization) проведена през 2019 г. в к.к. Албена, привлича участието на 330 учени от 50 държави.

## **НАУЧНИ ПРИНОСИ**

Изследванията на доц. Георгиев са фокусирани върху биосинтеза на фармацевтично значими молекули от растителен произход и тяхната устойчива биотехнологична продукция. През последните години за първи път в България е въведена съвременната платформа за метаболомика и метаболитно профилиране с ядрено-магнитен резонанс (ЯМР). ЯМР-метаболомната платформа понастоящем се прилага успешно в реални биотехнологични разработки, в областта на природните науки и фармацията. Трябва да се подчетае не само използването на най-съвременните

методологични подходи, но и широкият кръг от растителни обекти, както и медицински проблеми са предмет на метаболомни изследвания.

Най-значително място в представената научна продукция заемат изследванията с редица лекарствени растения и билки. Голям обем изследвания са проведени с представители на род *Rhodiola* и основно *Rhodiola rosea* (Розов златовръх, Златен корен). Този вид е с високо признати адаптогенни свойства и с интензивно приложение в традиционната медицина, както и в клиничната практика.

За да се определят фитохимичните вариации на основните вторични метаболити от различни морфологични части на *R. rosea* Wildgrown в България е осъществена 1H ЯМР-базирана метаболомика, комбинирана с многовариантни анализи на данни, последвано от чувствителният HPLC метод. Ароматните съединения салидрозид и розавини са идентифицирани само в коренищата и корените и липсват във въздушните части.

Използването на комбинирана платформа, базирана на HPLC-UV и едномерна (1D) и двумерна (2D) ЯМР- базирана метаболомика е дала възможност за интегриран анализ на екстракти от различни видове родиола, известни и уникални молекули, търговски продукти и идентифицирането на примеси, както и на основните метаболитни разлики, особено между *R. rosea* и *R. crenulata*. Методът HPLC, използван за откриване и количествено определяне на фенилетаноиди и фенилпропаноиди. Резултатите от HPLC анализите на продуктите показват големи отклонения между декларираните количества от производителя на салидрозид и розавини и количествата, отчетени в това проучване. Тези резултати показват необходимостта от развитието на методи за контрол на качеството на билковите препарати. Разработеният аналитичен подход може да бъде приложен на всеки етап от производство на търговски продукти, започващи с автентификация и оценка на суровините до готовия продукт.

Изследван е и потенциалът на екстракт от *R. rosea* и основните му съставки салидрозид, розарин, розавин и колофон да променя клетъчния растеж на човешки Jurkat T клетки, апоптоза на CD3 T клетки на далак и експресия на повърхностни маркери и фосфорилиране на извънклетъчна сигнално-регулирана киназа (ERK). За идентифициране на основните компоненти в метанолен екстракт от коренища на *R. rosea*, се прилага ЯМР базиран „fingerprinting“. Двумерният ЯМР анализ на 1H-13C хетероядрена единична кванткохерентна спектроскопия (HSQC) показва доминиращите компоненти в коренищата, като салидрозид и розавини (т.е. розарин, розавин и колофон). Точните количества на съединенията са определени чрез HPLC. За определяне на фосфорилиран ERK се използва проточна цитометрия. Първоначалният скрининг за клетъчна жизнеспособност и растеж в клетъчната линия Jurkat T разкриват най-силна биологична активност на розарин и розавин и най-меката на салидрозид и колофон. Розавин инхибира регулацията на TRAIL, докато розаринът показва обратен ефект. Данните показват, че различните ефекти на розарин и розавин върху експресията на TRAIL може да включва ясно действие върху ERK сигнализацията, което изтъква техния потенциал за манипулиране на TRAIL, което е важно за устойчивостта на апоптоза при автоимунни заболявания и рак.

Проведен е химически fingerprinting на стандартизиран търговски екстракт от родиола чрез ядрено-магнитен резонанс (ЯМР). Установено е, че изследваният екстракт от родиола оказва благоприятен ефект върху ученето и процесите на паметта в наивни плъхове и плъхове с увреждане на паметта, предизвикано от скополамин. Наблюдаваният ефект е вероятно поради множество основни механизми, включително неговия модулиращ ефект върху нивата на ацетилхолин в мозъка и MAO-инхибиторна активност, водеща до стимулиране на

невротрансмисията на моноамините. В допълнение на изразените стрес-защитни свойства на *Rhodiola rosea* L. също могат да играят роля за подобряването на когнитивни функции (5, 32, 34, 37, 39).

Изследван е ефекта на чистия салидрозид, куркумин и тяхната комбинация върху имунореактивността на плъхове, подложени на хроничен лек стрес (CMS), последван от липополизахарид (LPS)-индуцирано възпаление. Многократното приложение на салидрозид и куркумин и отделно и в комбинация довеждат до изразен антидепресант подобен ефект. Лечението със салидрозид, куркумин и тяхната комбинация намалява нивата на IL-6 и TNF- $\alpha$ , което предполага потенциално синергично взаимодействие на двете растителни съединения при техните имуномодулиращи, противовъзпалителни и антистресови активности (21, 45).

Други задълбочени изследвания са посветени на важни компоненти на вторичния метаболизъм при представители на род *Verbascum* (mulleins), както и на други растителни видове, продуциращи фенолетаноид гликозиди като вербаскозид.

Мулеините се използват в традиционната народна медицина от векове, за лечение на широка гама от човешки неразположения, наред с другото бронхит, туберкулоза, астма и различни възпаления. Проведена е метаболитна диференциация и класификация на пет различни вида *Verbascum* (mulleins) по метаболомични данни, базирани на ЯМР. Въз основа на получените резултати молекулите са разделени в две групи: група А (*V. phlomoides* и *V. densiflorum*) и група В (*V. xanthophoeniceum*, *V. nigrum* и *V. phoeniceum*). Установено е, че в растенията от група В се натрупват по-високи количества биоактивни иридоидни и фенолетаноидни гликозиди. *V. xanthophoeniceum* и *V. nigrum* натрупват значителни количества от фармацевтично важните харпагозид, вербаскозид, форзитозид В и левкоскептозид В, което подчертава възможността за приложението им във фармацевтичната индустрия. Това е първи доклад за анализ на листния метаболизъм на *Verbascum* sp.

Вербаскозидът е хидрофилен по природа и притежава фармакологично полезни дейности за човешкото здраве, включително антиоксидантни, противовъзпалителни и антинеопластични свойства в допълнение към многобройните ранозаздравяващи и невропротективни свойства. Изследвано е влиянието на вербаскозид и неговият позиционен дериват изовербаскозид, изолирани от растения от разред Устоцветни – *V. olympicum* (сем. Живенечевци) и *Sibthorpia africana* (сем. Живовлековци). Установено е, че силата и селективността на двете съединения зависи от степента на активиране и функционалното състояние на неутрофилите и са с потенциал да повлияят на свързаните с неутрофили патологии напр. при сепсис или стерилно възпаление без предизвикване на инвалидизиращи или животозастрашаващи ефекти от пълно блокиране на неутрофилите и вродената имунна система. Метаболитното профилиране чрез прилагане на 1H и 2D-ЯМР на екстракти от друго растение *Clinopodium vulgare* L. (див босилек) разкрива наличието на някои отличителни за рода фенолни съединения, като най-разпространени от групата на вторичните метаболити сред тях са кафенати, хлорогенната киселина и катехинът. Получените данни показват, че *C. vulgare* има добър потенциал за манипулиране на неутрофилни функции при определени условия, като клетъчното състояние, възпалителната среда и относителното съдържание на кафеено и хлорогеннокиселина в екстракта.

Трансформирани с *Agrobacterium rhizogenes* космати коренови култури от растение *Harpagophytum procumbens* (Дяволски нокът) и негова клетъчна суспензия са култивирани в колби при аерация. Изолирани са техните основни активни компоненти (фенолетаноид гликозиди вербаскозид, левкоскептозид А, б-ОН-вербаскозид и мартинозид), които са структурно

идентифицирани с ЯМР и LC – MS хроматография. След разделяне с HPLC чрез UV спектрометрия са определени техните концентрации. Препаратите, екстрактите и изолираните фенолетаноидни гликозиди от *H.procumbens in vitro* системи са изпитани върху миши макрофаги и към човешки серум за изследване на ефектите им върху класическия път на активиране на комплемента. Резултатите показват, че екстрактите и препаратите от ин витро системите и чистият вербаскозид (основната им активна съставка), имат силни противовъзпалителни свойства, сравними или дори по-високи отколкото тези на чистия харпагозид (основна противовъзпалителна съставка на интактни клубни на дяволски нокът). По този начин е доказан потенциалът им на нови противовъзпалителни средства.

Експериментите със суспензионни клетъчни култури от *H. procumbens* целят прехвърлянето на продуцирането на противовъзпалителните фенолетаноидни гликозиди в 3-L реактор с разбъркван резервоар или в 1-L стъклен колонен биореактор с импулсна аерация. Продукцията на verbascoside в реактора със стъклена колона значително превишава тази в майчините растения и културите, отглеждани в колби. (19, 20, 44, 52, 54, 55, 56)

Растенията на *Sambucus* имат видно място в народната медицина на хората от Европа и Близкия изток. Препаратите от *Sambucus ebulus* са показали антинеопластични, антимикробни (вкл. антивирусни) и противовъзпалителни свойства. Два нови тетраацетилирани иридоидни гликозиди, заедно с 3 известни флавонолови гликозиди са изолирани от листа на *S. ebulus* L. (Бъзак). Техните структури са определени с помощта на 1D- и 2D-ЯМР и UPLC-TOF MS (ултра високоефективна течностна хроматография - квадрупол time-of-flight маспектрометрия). Едно от новите съединение е рядък представител на иридоидните дигликозиди, съдържащи необичайна рибохексо-3-улопиранозилова захарна част.

Изолирани са и други биоактивни съставки, които се съобщават за първи път в рамките на вид *S. ebulus*, като някои - кверцетин-3-О-ламинарибиозид и изорамхамнетин-3-О-ламинарибиозид имат антиоксидантни свойства. Фракциите обогатени с флавоноиди, получени чрез прилагане на едноетапно хроматографско разделяне, също проявяват мощна антиоксидантна активност, докато суровият метанолов екстракт показва антихерпес симплекс вирус (HSV-1) активност. Може да се направи заключението, че *S. ebulus* може да служи като переспективен източник на мощни биоактивни молекули за различни цели. В друга разработка се прави за първи път систематичен анализ на метаболома на *S. ebulus* основан на ЯМР метаболомичен подход. 1H ЯМР отпечатък в комбинация с многовариантен анализ на данни разкрива основните метаболитни разлики на *Sambucus* зрели и незрели плодове, и листа. Установено е, че незрелите плодове и листата на *S. ebulus* имат подобни метаболом, който претърпява значителни промени по време на зреене на плодовете. Цианогенният гликозид самбунигрин не се открива в никоя проба. (33, 42, 43)

Голямо внимание в изследванията е оказано на трансформираните коренови култури (космати корени, (HR)), получавани чрез инфекция с *Agrobacterium rhizogenes* и се характеризира чрез размножаване на прекомерно разклоняващи се корени.

*A. rhizogenes* предоставя ценна платформа за изучаване на пътищата на биосинтеза в растенията. Генетично трансформираните коренови култури, наричани още космати корени (HR) осигуряват подход за производство на ценни вторични метаболити. Показани са и космати корени с огромен потенциал за приложение във фиторемедиацията, т.е. дезактивация на замърсени среди на растителна основа.

Интересна е разработката за приспособяване на метаболизма на космати корени на тютюна за производството на стилбени (t-ресвератрол (t-R) vt-пицеатанол (t-Pn) и t-птеростилбелен (t-Pt)).

Използван е метаболитно инженерна биотехнологична система, включваща ген, кодиращ стилбена синтаза (STS) и/или транскрипционен фактор (TF) AtMYB12, за да се генерира цялостен отговор във фенилпропаноидния път за синтез и координират регулирането на множество метаболитни стъпки. Изкуствена микроРНК за халкон синтаза (amiRNA CHS) е използвана за спиране на нормалния фукс чрез ендогенния ензим халкон синтаза (CHS). Трансгенният HR е в състояние да биосинтезира целевите стилбени, но са установени значителни метаболитни смущения, причинени от TF AtMYB12, което потвърждава сложността на биотехнологичните системи, базирани на *in vitro* култури от растителни семена за хетерологично производство на високо стойностни молекули.

Листата на растения *V. xanthophoeniceum* не са податливи на трансформация с три *A. rhizogenes* щамове, когато са прилагани методи за съвместно култивиране и директно заразяване. По тази причина е създадена ефективна система за индуциране на космена коренова култура. Вербаскозид е най-разпространеният вторичен метаболит и неговите количества в косматите клонове на корените са няколко пъти по-високи, отколкото при растителната тъкан на майчиното растение. Тези резултати показват възможността за широкомащабно производство на този биоактивен метаболит (28, 51, 53).

При използването на трансгенните космени коренови култури на *Fagopyrum tataricum* (татарска или горчива елда) се разкрива ролята на различни транскрипционни фактори и генетични семейства при продуцирането и биосинтеза на биоактивни флавоноиди, като рутин и кверцетин. Доказано е, че влияещите се от жасмонат (растителни хормони) MYB транскрипционни фактори, действат като репресори на биосинтеза на фенилпропаноида във *F. tataricum*. Детайлните молекулярни изследвания водят до резултати, които са обещаващи за по-нататъшно инженерство и регулация на растителния вторичен метаболизъм (9, 14, 23).

Синтезът на наночастици от благородни метали, използващи или микроорганизми, или растителни екстракти е съвременен подход, алтернативен на класическите (физически или химични) методи. Фитосинтезирани са сребърни (Ag), златни (Au) и биметални наночастици получени с посредничеството на етанолов екстракт на *Melissa officinalis* L. (Маточина) чрез редуция на металите, за която според настоящото изследване, причина са фенолните съединения, които освен редуцираща имат и стабилизираща функция.

Фитосинтезираните наночастици инхибират митодепресивния ефект на екстракта от *M. officinalis*. Различни проби от етанолов екстракт на *M. officinalis* с или без наночастици индуцират различни специфични хромозомни аберации. Микроскопският анализ разкрива защитен ефект на екстрактите от *M. officinalis*, съдържащи Au или Ag /Au наночастици относно увреждането на ядрената ДНК, изразено в отсъствие на микроядра. Високата честота на С-митозата, наблюдавана в клетките на кореновите връхчета на *A. сера*, инкубирани по-специално с екстракт с 10% Ag / Au нано-частици, е знак, че те биха могли да са потенциален антитуморен агент.

Антимикробната активност е изпитвана по отношение на разпространени щамове на бактериални видове, като *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, дрожди от род *Candida* и плесени - *Aspergillus niger* и *Trichoderma viride*. *A. niger* е известен като най-устойчивият патоген сред фунгите. Резултатите разкриват, че сребърните наночастици са активни срещу повечето тествани щамове (с изключение на *C. glabrata*, *A. niger*, *T. viride*). За *B. cereus* не само сребърните наночастици показват силен ефект, но и самият екстракт. Златните наночастици проявяват активност срещу ограничен брой щамове (*B. cereus*, *P. aeruginosa*

и *C. krusei*). Биметалните наночастици (злато/сребро) обикновено проявяват междинен ефект (с изключение на *S. aureus*), подобен на стойностите, получени със сребърните наночастици (29).

Интересни метаболомни изследвания са проведени и с редица други лечебни растения: Воден екстракт на *Nepeta nuda* ssp. *nuda* L. влияе върху репликацията на човешкия херпес алфавирус (HHV) (10). От плодовете на китайска черница (*Cudrania tricuspidata*) е изолиран изофлавонол Сканденолон, който показва антираков потенциал, като подтиска жизнеспособността на MCF-7 клетките на рака на гърдата. Подобни изследвания са проведени и с екстракт от ленено семе, който индуцира апоптоза в човешки ракови клетки MCF-7 (15, 17). Метаноловите екстракти от *Dianthus calosephalus* притежават висок антиоксидантен капацитет, а етилацетатни екстракти показват инхибиторна активност върху холинестерази, тирозиназа,  $\alpha$ -амилаза и  $\alpha$ -глюкозидаза. Доказано е, че рутинът е конкурентен инхибитор на тирозиназа (25). Проучен е състава на хидроетанолни екстракти от корените на *Arctium lappa* L. (Голям репей) и въздушните части на *Veronica persica* Poiret (Великденче). Те са изпитани за определяне на антиоксидантния им потенциал и въздействието им на фунги *A. niger* и *P. hirsutum*. Микроемулсиите, съдържащи екстракти от великденче и репей упражняват противовъзпалителни ефекти в експерименталните модели (24, 27). Съхранение на българското ендемично растение *Achillea thracica* Velen (Тракийски равнец) е постигнато чрез *in vitro* култивиране на моно-възлови сегменти и последващо прехвърляне на регенерираните растения върху среда за кореноразвитие и натрупване на листна биомаса. Доказано е, че различните условия на растеж влияят на състава на етеричните масла, което предполага тяхното участие в процеса на адаптация и оцеляване в променящите се условия на околната среда (31). Проучени са промените в съдържанието на митрагинин в *Mitragyna speciosa*. Установено е, че съдържанието на митрагинин се увеличава в стъблата, което е в съответствие с по-високи нива на експресия на алфа субединицата на антранилат синтаза (ASA) и триптофан декарбоксилаза (TDC) (50). Разработен е ефикасен протокол за изолиране на цимифугин от растение *Peucedanum schottii* и е оценена ензимната инхибиторна активност. Цимифугинът показва ниско до умерено инхибиране на холинестеразите (AChE и BChE) и тирозиназа (TYR), които са ключови ензими за лечение на някои невродегенеративни заболявания (38). В изследване на изолираните от *Agrimonia pilosa* агримонOLID и дезметилагримонOLID е доказано за първи път, че тези съединения стимулират експресията на детоксикиращи ензими фаза II чрез сигналния път, зависим от Nrf2 (35).

Анализираните многобройни разработки са обединени освен с характерната пряка връзка между фундаментални и приложни изследвания и с умелото прилагане и логично комбиниране на редица най – съвременни изследователски методи: ЯМР, GC-MS, LH-MS, хетероядрена единична кванткохерентна спектроскопия (HSQC), високо ефективна противотокова хроматография (HPLC), UV-VIS спектрометрия, рентгенова флуоресценция, трансмисионна електронна микроскопия, RT-qPCR и др.

В представената информация за изследователската работа на доц. д-р Милен Георгиев, приносите са организирани в 7 основни параграфа и реално отразяват постиженията в научните разработки, които той е ръководил или е участвал. Те могат да бъдат обобщени в три основни изводи:

1. Изключителен принос към световната растителна биотехнология имат постигнатите значими резултати, от фундаментално и приложно значение, при проучването на метаболитното регулиране на вторичния метаболизъм на растенията на основата на комплексно



- молекулярно проучване и създаване на реална възможност за качествен и количествен контрол на комплексни по състав фармацевтични продукти и хранителни добавки.
2. Изолиране, пречистване и проучване на биотехнологичния и фармакологичен потенциал и механизъм на действие на растителни екстракти и биологично-активни молекули.
  3. Създаване на трансформирани коренови култури на лечебни растения и системи за мащабиране на продукцията на биологично-активни вещества. Разработване на методи за получаване на нови материали на база принципите на „зелената“ химия.

Включените за оценка в този конкурс разработки са провеждани след присъждане на научната длъжност „Доцент“. Всички трудове на кандидата се приемат за рецензирани. Изследванията и резултатите се отличават с оригиналност, актуалност, фундаментално и приложно значение, изцяло съответстват на научната област и научно направление на настоящия конкурс. Наред с това, те имат отношение и значение и за други научни направления от други научни области, като Биологични науки, Химични науки и Фармация. В този контекст, научната дейност на доц. Георгиев може да бъде определена и као интердисциплинарна, което се потвърждава и от високия брой публикации в квартали Q1 и Q2.

**В ЗАКЛЮЧЕНИЕ**, оценявайки комплексно научната дейност на доц. д-р Милен И. Георгиев може да се твърди, че от работата му произтичат съществени фундаментални научни и научно-приложни приноси и се разкриват възможности и перспектива за нови изследвания по актуални проблеми, насочени към потребностите на реалните биотехнологични производства. Представен ни е ярък пример на пряка връзка на постижения с теоретичен и приложен характер. Задължително е да се отбележи, че всички изследвания са изпълнени на високо научно ниво и се отличават и с използваните в тях най – съвременни изследователски подходи за анализ: молекулярно-генетични, химични, физико-химични, микробиологични, и биоинформатични.

Постиганията на доц. М. Георгиев са публикувани в различни авторитетни научни списания, намерили са отражение в многочислените и силно финансирани научно-изследователски проект и са намерили много широк положителен отзвук в научната общност у нас и по света, което безспорно потвърждава значимостта на разработваните задачи и приложимостта на получените резултати. Научната продукция и наукометричните показатели на доц. М. Георгиев многократно надхвърлят изискванията на ЗРАС РБ, и съответния Правилник на ИМикБ за заемане на академичната длъжност „Професор” в Професионалното направление 5.11. Биотехнологии.

Всичко това ми дава основание да подкрепя кандидата и убедено да препоръчам на уважаемите членове на Научното жури да оценят положително и да предложат на НС на ИМикБ да присъди на доц. д-р М. Георгиев, академичната длъжност „Професор”.

София, 26.08.2020 г.

РЕЦЕНЗЕНТ:

(доц. д-р Златка Алексиева)