

РЕЦЕНЗИЯ

Относно: Научната продукция на гл. ас., д-р Андрей Стоянов Марчев за участие в конкурс за присъждане на академичната длъжност „Доцент” за нуждите на лаборатория „Метаболомика”, Департамент „Биотехнология”, ИМикБ-БАН по професионално направление 5.11. Биотехнология. Конкурсът е обявен в ДВ бр. 12 от 12.02.2021 от доц. д-р Златка Милчева Алексиева Институт по микробиология „Стефан Ангелов”, БАН

Д-р Андрей Стоянов Марчев, гл. ас. в лаборатория „Метаболомика“ към Департамент „Биотехнология“ в И-т по микробиология, БАН е единственият кандидат, подал документи по обявения конкурс. Документите по конкурса отговарят на изискванията на ЗРАСРБ и съответните към него Правилници.

ПРОФЕСИОНАЛНА БИОГРАФИЯ

Андрей Марчев получава висшето си образование в Университет по Хранителни Технологии, гр. Пловдив, като придобива степента „Бакалавър“ по Биотехнологии през 2005 г. и магистър по Биотехнологии, през 2006 г. Постъпва като асистент в Института по микробиология на БАН през 2012 г. Придобива научната и образователна степен „Доктор“ в Институт по Микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН през 2014 г., а през 2015 г. е избран и назначен като Главен асистент в Института. От 2017 г. заема длъжността Главен асистент и в създадения Център по Растителна Системна Биология и Биотехнология, гр. Пловдив.

Д-р Андрей Марчев работи в областта на растителните биотехнологии и по-конкретно провежда проучвания по биосинтетичния капацитет на растителни *in vitro* системи с цел биосинтез на биологично активни молекули. Оформил се е като специалист и прилага метаболомни изследвания базирани на ядрено-магнитния резонанс и високоефективна течна хроматография. Целта е идентификация и количествено определяне на активните молекули в комплексни растителни екстракти.

Д-р Андрей Марчев е провел редица специализации в престижни научни центрове: Технически университет в Дрезден, Машиностроителен факултет, Институт по хранително-битови процеси, Дрезден, Германия, 2010-2011; - Лаборатория по молекулярна и клетъчна биология на рака (LVMCC), Люксембург, 2014; - Отдел за изследване на рака, Институт за медицински изследвания, Център за рак на дървото Jascu, Университет в Дънди, болница и медицинско училище Ninewells, Дънди, Шотландия, 2015; - Технически университет в Дрезден, Факултет по математика и естествени науки, Институт по ботаника, Германия, 2015; - Технически университет в

Дрезден, Факултет по математика и естествени науки, Институт по ботаника, Германия, 2017. Темите на тези специализации оказват съществено влияние върху неговото развитие, като учен с широк спектър от виждания и подходи за изследвания, свързани с противовъзпалителната, противотуморната и цитопротективната активност на вторични метаболити от растителен произход, а също така прилагането на различни подходи на метаболитното инженерство.

Значително е и участието на кандидата в научно-изследователски проекти. Списъкът съдържа 12 проекти, от които 2 международни и 10 национални изследователски проекти. Андрей Марчев е ръководител на три от тези проекти. Общата сума на привлечените средства за ИмикБ-БАН по проектите, ръководени от гл. ас. д-р Андрей С. Марчев възлиза на 30 000 лв. Има Диплома за отличен проект в направление „Биомедицина и качество на живот” по съвместна програма „Подпомагане на млади учени” на МОН и БАН. Научната му дейност е преставена с 25 участия в международни научни форуми (2 доклада и 23 постерни презентации на международни научни форуми, организирани в България, Гърция, Китай, Хърватска, Румъния, Нидерландия). Член е на организационния комитет на три международни научни конференции. Има 4 награди за най-добър постер.

Д-р Андрей Марчев е бил рецензент на дисертация в университет на Аликанте, Испания, на проекти по Програма за подпомагане на младите учени в БАН и е канен рецензент в над 10 реферирани научни списания. Членува в СУБ и в Българско фитохимично сдружение, където е Член на управителния съвет от 2017-та година.

ОСНОВНИ НАУКОМЕТРИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ, СВЪРЗАНИ С КОНКУРСА

Анализът на данните, отнасящи се към показателите по Националните минимални изисквания от Правилника за приложение на ЗРАСРБ, показва следното: За притежаването на ОНС „Доктор“ са определени 50 т. По показатели от група В са представени 10 публикации: 5 с Q1; 4 - с Q2; и 1 - с Q3, което приведено в точки дава сума от 102.74 т. По показателите от група Г, в рамките на показател 7 са представени 17 публикации, от които 8 - с Q1; 2 публикации с Q2; 2 публикации с Q3; 1 публикация с Q4 и 4 в издание с SJR без IF. По показател 8 са включени 11 публикации, в нереперирани списания с научно рецензиране или в редактирани колективни томовете, а по показател 9 – 4 глави от книги. Тези данни дават общо сумата от 202.70 т.

От показателя за цитирания на публикациите в световно известни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus) или общо за показатели Д, са

представени 218 цитирания без автоцитати, с които се набират 2 190 т. Ръководството и участието в научно-изследователски проекти и привлечените средства от тях, включени в група показатели Е, общият брой точки е 216 т.

Общият брой точки от данните попълнени в Талицата за минималните национални изисквания е 2 761.44 при минимално необходими 400 т.

Изводът е, че д-р Андрей Марчев преизпълнява изискванията по всяка една от групите показатели, необходими за заемане на научната длъжност „Доцент“ и като цяло набира многократно (близо 7X) повече точки от задължителния минимум.

Относно „Допълнителни критерии за израстване на академичния състав в ИМикБ“ също може да се отбележи, че критериите са преизпълнени. За цялата си научна дейност, Андрей Марчев е автор в 49 научни труда с общ ИФ 86.83, общ брой цитирания – 271 и Н-индекс = 9.

За кокурса, д-р Андрей Марчев е представил 43 публикации в списания с ИФ (без включените за „доктор“), като в 17 от тях първи и/или кореспондиращ автор. Изискваните стойности за ИФ и Н-индекс сакратно надвишени. Надвишено е и допълнителното изискване за участие и ръководство на научно-изследователски проекти.

НАУЧНИ ПРИНОСИ

Значително място в представената научна продукция заемат изследванията с лечебни растения. Основен обект на изследвания са 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 1Н 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 са достатъчно високи, за да изпълнят фармакопейните критериите в страни като Русия и САЩ.

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*. 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 Т клетки, апоптоза на CD3 Т клетки на далак и експресия на повърхностни маркери и фосфорилиране на извънклетъчна сигнално-регулирана киназа (ERK). Получени са данни, които показват, че различните ефекти на розарин и розавин върху експресията на TRAIL (апоптоза-индуциращ лиганд свързан с тумор некротизиращ фактор алфа TNF) може да се дължат на въздействие върху ERK. Тези резултати изтъкват техния потенциал за манипулиране на TRAIL, което е важно за устойчивостта на апоптоза при автоимунни заболявания и рак. 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. Синергичният ефект на тези съединения води до намаляване на нивата на IL-6 и TNF- α , което показва техния потенциал за лечение на състояния на хроничен стрес и лека до умерена депресия. Изследвания с помощта на ЯМР показват, че стандартизиран търговски екстракт от родиола оказва благоприятен ефект върху ученето и процесите на паметта в наивни плъхове и плъхове с увреждане на паметта, предизвикано от скополамин (9, 15, 19, 20, 21, 23).

Naberlea rhodopensis Friv. е ендемичен за България възкръсващ растителен вид, съдържащ биологично активни фенолетаноидни гликозиди, които притежават антиоксидантна активност. Проведено е метаболитно профилиране посредством метаболомика базирана на ядрено-магнитния резонанс на ин витро култивирани растения *N. rhodopensis*, както и идентифициране на молекулите, които увеличават експресията на транскрипционен регулатор на антиоксидантния баланс (Nrf2) в неутрофилите, изолирани от костния мозък на мишки. След фракциониране са установени фракциите, които съдържат миконозид или миконозид и калцеолариозид Е и имат най-висока активност по отношение експресията на Nrf2. Показан е терапевтичният потенциал на двете молекули за регулиране на патологични процеси, свързани с оксидативния стрес и регулиране на клетъчната хомеостаза (8).

Чрез ЯМР-базирана метаболомика и високоефективна течностна хроматография (HPLC) е проведена фитохимична характеристика на растителни екстракти на слабо

проучен вид лечебно растение *Veronica austriaca* L., събран от две местообитания в България. Като основен вторичен метаболит и в двата екстракта е идентифициран и количествено анализиран гликозидът арбутин. Чрез колориметричен анализ и проточна цитометрия е проучено влиянието на екстрактите и чист арбутин върху жизнеспособността на неутрофили, изолирани от костен мозък на мишки и продуцирането на цитокини (10).

Доказана е ин витро изразена анти-херпесна активност на воден екстракт на широко прилаганото в традиционната медицина растение *Nepeta nuda* ssp. *nuda* L. върху човешкия херпес алфавирус (HHV). Предполага се повлияване както в ранните фази (абсорбцията) така и в късните прояви (репликацията) на HHV инфекцията. Метаболомният анализ на екстракта показва като основни молекули розмаринова, хлорогенова, галова, ванилова, кафеена, протокатехова, ферулова и цинамова киселини; докато флавоноидите са представени предимно от цирсимаритин, хризеориол, ванилин, рутин и кверцетин. (11).

Анализиран е метаболитния профил на *Clinopodium vulgare* L. (котешка стъпка). Чрез прилагане на 1Д- и 2Д-ЯМР профилиране са идентифицирани кафеена и хлорогенова киселини, катехин и други първични и вторични метаболити. Биологичният ефект на екстракта от *C. vulgare* (CVE) е проучен при зимозан-индуцирана COX-2 експресия и апоптоза на миши неутрофили. Получените данни показват, че CVE има изявен потенциал да модулира неутрофилната функция и може да служи като източник на нови растителни молекули с противовъзпалителна активност (14).

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. Задълбочени изследвания са посветени на важни компоненти на вторичния метаболизъм при представители на род *Verbascum* (mulleins). Успешно е приложена и ЯМР-метаболомиката за определяне на метаболитните разлики между изходно растение *Verbascum nigrum* и получените чрез генетична трансформация с *Agrobacterium rhizogenes* трансформирани коренови култури (24).

Разработен е протокол и за първи път е проведена генетична трансформация на *Verbascum eriophorum* (вид Лопен) с *Agrobacterium rhizogenes*. *Verbascum eriophorum* е рядък вид с ограничено разпространение и е слабо проучен по отношение на фитохимичен състав. Посредством 1Д- и 2Д ЯМР-базирана метаболомика са

определени метаболитни промени в трансформираните коренови култури спрямо майчиното растение. В резултат на това е идентифицирана структурата на фенолетаноид гликозид - вербаскозид, който е преобладаващия метаболит в трансформираните корени. Тези данни свидетелстват за възможността да бъдат използвани получените корени като биотехнологична платформа за устойчиво продуциране на ценни вторични метаболити от растителен произход (22).

Интересна в този аспект е разработката за приспособяване на метаболизма на космати корени на тютюна за производството на стилбени (t-ресвератрол (t-R) вт-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 фенолпропаноидния 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 (17).

Като обобщение, научните и научно-приложни приноси на гл. ас. д-р Андрей С. Марчев имат отношение към няколко научни области, като растителните биотехнологии, химия на природните молекули и фармакология. Постиженията са резултат от проучването на доста широк кръг от растителни обекти и методични подходи за анализ, значителна част от които са описани до тук. На тази база, могат да бъдат формулирани и изтъкнати няколко извода:

1. В изследванията си д-р Андрей Марчев развива метаболитното профилиране за качествен и количествен анализ на вторични метаболити в лечебни растения, чрез прилагането на най-съвременни методи като ядрено-магнитния резонанс, високоефективна течна хроматография, GC-MS, UV-VIS спектрометрия, трансмисионна електронна микроскопия, RT-PCR и др.

2. Показан е терапевтичният потенциал на екстракти от редки или защитени растителни видове (*Haberlea rhodopensis* Friv., представители на род *Rhodiola*, *Veronica austriaca* L. *Nepeta nuda* ssp. *nuda* L. *Clinopodium vulgare* L. и др.) с цел биосинтез на

ценни вторични метаболити (салидрозид, куркумин, миконозид, калцеолариозид E и др.).

3. При култивирането на растителни системи *in vitro* е показана реална възможност за производство на ценни фитохимикали. Чрез съвместно отглеждане с *Agrobacterium rhizogenes* са получени т. нар. космати коренови култури, при които чрез транскрипционна регулация на експресията и инхибиране на синтез на странични метаболитни продукти е приспособен метаболизма на трансгенни космати корени на тютюна за производството на стилбени (t-ресвератрол и негови деривати).

4. Разработен и регистриран е полезен модел за оптимизиране състава на хранителна среда за *in vitro* размножаване на Орфеевото цвете (*Haberlea rhodopensis* Friv.)

5. Разработен е аналитичен подход за контрол на качеството на билковите препарати, чрез автентификация и оценка на суровините, и проследяване на етапите на производство на търговски препарати.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Включените за оценка в този конкурс разработки се отличават с оригиналност, актуалност и обществена значимост. Изцяло съответстват на научната област и научно направление на настоящия конкурс. Те са обединени освен с търсената пряка връзка между фундаментални и приложни изследвания и с умелото прилагане и логично комбиниране на редица най – съвременни изследователски методологични подходи. Наред с това трябва да се подчертае, че на метаболомни изследвания са подложени както широк кръг от растителни обекти, така и промени във функцията на гени, свързани с актуални медицински проблеми. Интегрирането на растителни *in vitro* системи и метаболомика за изучаване на клетъчните процеси, генната регулация и биосинтез на метаболитите в контролирани условия води до повишаване на ефективността на биотехнологичните процеси с култивиране на растителни култури, продуценти на биологично активни вещества с важно фармацевтично и медицинско значение. Получените резултати разкриват възможности и перспектива за нови изследвания по актуални проблеми, насочени към потребностите на реалните биотехнологични производства.

Наукометричните данни на д-р Андрей Стоянов Марчев значително надвишават минималните национални и допълнителните изисквания на ЗРАС РБ, и съответния

Правилник на ИМикБ за заемане на академичната длъжност „Доцент” в Професионалното направление 5.11. Биотехнологии.

Постиженията на д-р Андрей Марчев са публикувани в авторитетни научни списания и са намерили широк положителен отзвук в научната общност у нас и по света, намерили са отражение в редица финансирани научно-изследователски проекти, което безспорно потвърждава значимостта на разработваните задачи и приложимостта на получените резултати.

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 гл. ас. д-р Андрей Стоянов Марчев, академичната длъжност „Доцент”.

София, 07.06.2021 г.

РЕЦЕНЗЕНТ:

(доц. д-р Златка Алексиева)