

## РЕЦЕНЗИЯ

Върху дисертационния труд на Кристина Василева Божинова за придобиване на образователна и научна степен „Доктор,, по професионално направление 4.2 Химически науки (Аналитична химия ) на тема „Оптимизационни химико-аналитични и популационни фармакокинетични подходи за приложение в експерименталната и клиничната фармакология,,; докторант на самостоятелна подготовка в Катедрата по Приложна Неорганична химия на ФХФ на СУ „Св. Климент Охридски,, с научен ръководител проф. д-р Димитър Терзииванов дм, дмн и научен консултант доц Иванка Атанасова, дм.

От проф. дхн. Стоян Александров Неделчев, пенсиониран преподавател, ръководител на Катедрата по аналитична химия във факултета по Химия и Фармация на СУ „Св. Климент Охридски,, от 1982 до 1991 г.

Рецензията е подготвена в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р. България и Правилника за приложението му в СУ „Св. Климент Охридски,,.

Във връзка със защитата са представени всички необходими документи и към тях нямам допълнителни изисквания и претенции.

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е написан на 183 стр., съдържа 27 фигури, 20 таблици, 32 приложения и 287 литературни източника.

От автореферата на дисертацията се вижда, че по дадената тема са публикувани 2 статии в реномирани списания и трета е под печат. Забелязани са 5 цитата.

На занимаващите се с научни изследвания е известно, че някои много съществени резултати, а могат да се посочат и забележителни открития, са направени при провеждане на изследвания, засягащи области на две, както и на две и повече науки. За това разбира се, че се е изисквала висока квалификация в съответните науки. В тази връзка, от проведените от Кр. Божинова научни изследвания се вижда, че са й били необходими познания в области на медицината, химията, биологията, фармацията и математиката. Няма никакво съмнение, че изследванията са много актуални. Изучаването на фармакокинетичното поведение на лекарствата е актуално, ще бъде актуално и в бъдеще.

От представените материали се установява, че Кр. Божинова след провеждане на магистратурата си по органична и аналитична химия в периода 1991-1993 г започва трудовата си дейност. През годините тя е провеждала както рутинна, а под компетентното ръководство на проф. д-р Д. Терзииванов, дм, дмн и научноизследователска работа. С течение на

времето компетентността и е позволила да намери всичко онова, което обединява и свързва изследванията ѝ, да ги обедини и да кандидатства за разкриване на процедура за защита на дисертация чрез самостоятелна подготовка под научното ръководство на проф. д-р Д. Терзииванов, дм, дмн и научен консултант доц. д-р И. Атанасова, дм.

Както се вижда от темата, целта на дисертацията е разработването и прилагането на подходи за оптимизиране на високо ефективни течни хроматографски методи и на популационни фармакокинетични анализи в експерименталната и клинична фармакология. На специалистите е добре известно, че оптимизационните подходи, приложени при определяне на най-подходящите условия за хроматографски анализ позволяват бързо, сравнително лесно и икономически изгодно разработване на високоефективни течнихроматографски методики за качествено и количествено едновременно определяне, както на лекарства с различна химическа структура, така и на лекарства с подобна химическа структура. Според мен, както научните ръководители на дисертацията, по време на изследванията, са поставяли пред Кр. Божинова много голям брой различни задачи, които тя е разрешавала успешно, така също и самата тя си е поставяла неотложни за разрешаване задачи. В дисертацията са посочени следните конкретни задачи: оптимизиране и валидиране на високоефективна течнихроматографска методика за едновременно качествено и количествено определяне на валпроева киселина, фенитоин и карбамазепин в кръв от пациенти; оптимизиране и валидиране на високоефективна течнихроматографска методика за едновременно качествено и количествено определяне на кофеин и неговите метаболити в биологични течности от бозайници; алометрично предсказване при хора активността на ензима CYP1A2 чрез експериментално фармакокинетично изследване; приложение на D-оптималния дизайн при популационния фармакокинетичен анализ на кофеин; приложение на D-оптималния дизайн при клинични проучвания на ампицилин и теофилин; приложение на метода Монте Карло симулации за целите на лекарственото фенотипизиране активността на CYP1A2. Не могат да се подминат и някои не посочени задачи, като например, една от тях е запознаване с методите за разделяне и концентриране и тяхното съчетаване с методите за количествено определяне на различни компоненти в някои обекти. Известно е, че има много изисквания при вземането на проби за анализ и тяхната предварителна подготовка. Несъмнено е, че е трябвало да се отдели внимание на хибридните методи за анализ, при които пробовземането, разделянето, концентрирането и количественото определяне са неразривно свързани.

При разрешаване на задачите е подхoдeно компетентно, целесъобразно и научно обосновано.

Като се анализира съдържанието на дисертацията се вижда, че тя е структурирана правилно и оптимално, като съдържа: съдържание 1 стр.; използвани съкращения 3 стр.; въведение 3 стр.; литературен обзор 32 стр.; цел и задачи 1 стр.; методи и материали 17 стр.; резултати и обсъждане 57 стр.; изводи 1 стр.; приноси 1 стр.; библиография 28 стр.; приложения 35 стр.

Литературният обзор според мен е конкретен и всеобхващащ. Във включените в него 287 цитирани източника се съдържат литературни източници от 1954 год. до 2016 год. Включени са собствените публикации, публикации на български и чуждестранни автори. Използвани са съвременните и ефективните методи за извършване на литературната справка. Постигнатата много добра литературна осведоменост позволява след това много добре да се съчетае с високата квалификация на експериментатор Кр. Божинова. По този начин тя е могла да разграничи най-съществените моменти и да намери най-ефективния подход при научните изследвания.

Проучени са литературните източници, свързани със задачите на дисертацията. Литературните източници са групирани в подходящите за целта раздели: подходи за оптимизиране на високоефективен течнокроматографски анализ на лекарства за целите на популационния фармакокинетичен анализ; приложение на алометричното скалиране; подходи за оптимизиран дизайн при популационното фармакокинетично моделиране; възможности на симулационния метод Монте Карло за приложение при лекарствено фенотипизиране. Обект на литературния обзор са антисептичните лекарства карбамазепин, фенитоин и валпроева киселина. Много внимание е отделено на кофеина и неговите метаболити в биологични течности. Отделено е и внимание на субстанцията пеницилин.

От литературния обзор е направено заключението, че високоефективната течна хроматография /ВЕТХ /се е наложила като най-широко използвания метод за анализ на лекарства в биологични проби.

Кр. Божинова е преценила за съобразно да представи същността на дисертационния си труд по следния начин, като използва подходящите заглавия и подзаглавия, които аз намирам за целесъобразни и удачни, макар и много подробни, а именно : методи и материали; вещества, реактиви и хроматографска апаратура; експериментална част за ВЕТХ анализи; експериментална част за ВЕТХ определяне на антиепилептични лекарства; експериментална част за определяне чрез ВЕТХ на кофеин и първичните му метаболити в кръв и урина при плъхове и хора; експериментална част за определяне на кофеин и негови първични и

вторични метаболити в урина ; експериментална част за определяне чрез ВЕТХ на ампицилин; дизайн на проучванията и участници; популационен ФК анализ на натриев валпроат, фенитоин и карбамазепин; експериментални и клинични проучвания на кофеин и метаболитите му; клинично проучване на ампицилин при здрави доброволци; клинично проучване на теофилин при здрави доброволци; фармакостатистически анализ; статистически анализ; популационен фармакокинетичен анализ; D-оптимален дизайн при непараметрично популационно ФК моделиране; Метод Монте Карло ( МК ) симулации за лекарствено фенотипизиране.

Експерименталните изследвания са проведени коректно. На Кр. Божинова като специалист е било добре известно, че при течна хроматографските методи, в това число и при високоефективната течна хроматография, хроматографският процес се оптимизира чрез подходящ избор на колона, подходяща подвижна фаза, подходящ режим на работа на колоната /изократен или градиентен режим на елуиране/ и специална предварителна подготовка на пробите за анализ. Използувала е подходящи и качествени тестови съединения, подвижни фази и реактиви. Възможностите на много добрата апаратура – високоефективен течен хроматограф с автоматичен градиентконтролер, подходящи хроматографски колони, помпи и фотодиоден детектор, са използвани оптимално. Предварителната подготовка на пробите за анализ е извършена съобразно конкретния обект, като е използвана и подходяща техника. Оптимизираните ВЕТХ методики са валидирани коректно и удачно според международните препоръки и са използвани с достатъчна точност, чувствителност, специфичност и възпроизводимост при анализа на антисептични лекарства в човешка плазма, а също и на кофеин и метаболитите му в биологични течности от хора и малки лабораторни животни.

От представения илюстративен материал се вижда селективно и възпроизводимо разделяне на хроматографските пикове.

Значителен етап в работа на К. Божинова, при който според мен тя е трябвало да положи много усилия, да прояви висока квалификация, компетентност и добро познаване на съществуващите в литература сведения, е свързан с фармако-статистическия анализ. В дисертационния труд много подробно е описана работата, а също така са анализирани подробно, правилно и коректно получените резултати. Вниманието е било съсредоточено върху: популационния фармакокинетичен анализ; алометричното предсказване при хора активността на ензима CYP1A2 чрез експериментално фармакокинетично изследване; приложението на D-оптималния дизайн при популационния фармакокинетичен анализ на

кофеин; приложението на D-оптималния дизайн при клинични проучвания на ампицилин и теофилин; приложението на метода Монте Карло симулации за целите на лекарственото фенотипизиране активността на CYP1A2.

Трябва да отбележа, че за първи път D- оптималния дизайн се съчетава с популационния непараметричен фармакокинетичен анализ за реализиране на етични и икономически ефективни фармакокинетични проучвания с вземане само на една кръвна проба от човек или животно за оценка на лекарствените фармакокинетични параметри в изучаваната популация. Комбинирането на популационния фармакокинетичен подход с алометричното скалиране предоставя значими възможности за оценяване на междувидовата вариабилност в активността на ензима CYP1A2.

Считам, че броят на плъховете – 31 бели мъжки плъха при експерименталните и клинични проучвания на кофеин и метаболитите му и броят на доброволците за същите изследвания - 34 възрастни индивида, е оптимален съобразно конкретните възможности и целта за изследванията. Измерените концентрации на кофеин в плазмата на плъховете с използване на оптимизираната и валидирана ВЕТХ методика са послужили да се създаде популационен и D-оптимален фармакокинетичен модели на кофеин при плъхове за първи път досега в експерименталната фармакология и фармакокинетика.

Също така съобразно възможностите при клиничното проучване на ампицилин при здрави доброволци са подбрани 14 здрави доброволци от мъжки и женски пол, а при клиничното проучване на теофилин са включени 26 здрави доброволци от мъжки пол.

При провеждането на експериментите не са щадени време, усилия, търпение и всеотдайност.

От раздела на дисертацията „Резултати и обсъждане” се вижда, че поставените задачи са изпълнени прецизно и е постигната целта на дисертацията. Вижда се, че са оптимизирани и валидирани ВЕТХ методики за количествено определяне на лекарства / натриев валпроат, фенитоин, карбамазепин/. Оптимизиран и валидиран е ВЕТХ анализ на кофеин и неговите първични и вторични метаболити в урина. Приложено е алометричното скалиране при оценка активността на CYP1A2. Приложена е D-оптималността при дизайниране на популационни фармакокинетични проучвания /клинично проучване на кофеин, теофилин и ампицилин/. Приложен е методът Монте Карло за лекарствено фенотипизиране на CYP1A2 чрез кофеин.

Дисертационният труд съдържа научни и научни приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката.

Приносителите в дисертационния труд могат да се отнесат както към категорията „обогатяване на съществуващите знания”, така също и към

„новост в областта на научните изследвания”. Принос е разработеният подход за оптимизиране на високоефективни течнохроматографски методики за едновременно количествено определяне на антиепилептичните лекарства натриев валпроат, карбамазепин и фенитоин, както и на кофеин и метаболитите му за целите на популационния фармакокинетичен анализ. Принос е: комбинирането на алометричното скалиране с популационния фармакокинетичен анализ за оценка ензимната активност на CYP1A2; създаването и валидирането на D-оптимални популационни фармакокинетични модели на кофеин, теофилин и ампицилин с ограничен брой взети кръвни проби за лекарствен анализ за целите на клиничните проучвания; приложението на метода Монте Карло в комбинация с популационния непараметричен фармакокинетичен анализ при лекарственото фенотипизиране активността на CYP1A2.

След внимателно запознаване с автореферата се вижда, че той е написан грижливо, коректно и точно отразява дисертационния труд.

Познавам К. Божинова още от детските ѝ години. Завърши висшето си образование с отличен успех в Химическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски” като магистър по органична и аналитична химия. През 1994 и 1995 г работи като химик специалист в аналитична лаборатория по анализ на растения в Ботаническият институт на БАН. От 1995 г до 2013 г работи като химик, асистент, ст. асистент и главен асистент по аналитична химия в УМБАЛ „Св. Ив. Рилски”. Основните ѝ дейности са свързани с внедряване и валидиране на нови и съвременни химико-аналитични методи за изследване на лекарствени средства в биологични течности. Участва във фармакокинетични и фармакотерапевтични проучвания, провеждани в клиниката. Участва при обучението на студенти, докторанти и специализанти.

В периода 2000- 2001 г е консултант изпълнител в лаборатория по фармакокинетика в медико биологична секция в НИХФИ АД, като се занимава с разработване и валидиране на високоефективни течно хроматографски методики за количествен анализ на лекарства за целите на проучвания за оценка на бионаличност на лекарства – генерици.

В периода 2006 – 2010 г тя е управител на Клинфармконсулт ЕООД с основни дейности по организиране на клинично фармакологични проучвания и мониториране на фармакологични проучвания.

През 2013 г в УМБАЛ „Св. Иван Рилски”, ЕАД, като специалист тя извършва качествен и количествен анализ на тежки метали и метаболити на токсични вещества в биологични течности. Провежда научна и научно приложна дейност в областта на медицината. Провежда и учебна дейност по подготовка на студенти, специализанти и докторанти по медицина с образователно квалификационна степен бакалавър и магистър.

След 2013 г К. Божинова постъпва на работа във Факултета по химия и фармация на СУ „Св. Климент Охридски”. В момента е асистент по фармация. Провежда научни и научно приложни изследвания в областта на фармакологията, аналитичната химия, токсикологията и фармакокинетиката. Участва при обучението на студенти по фармакология, токсикология и фармакокинетика.

От цялостната изследователска и преподавателска дейност на К. Божинова се вижда, че тя е високо квалифициран и способен изследовател и преподавател. Тя притежава задълбочени теоретични научни познания и професионални умения по дадената научна специалност. Проявява инициативност, организираност и компетентност при изпълнение на проекти.

Във връзка с дисертационния труд нямам особени критични бележки и препоръки. Може би мога да препоръчам при провеждане на такива изследвания с използването на високоефективната течна хроматография на някой етап от изследванията да бъде направен опит експерименталните резултати да бъдат сравнени с използване и на друг независим метод.

Заклучение: Като имам предвид извършената голяма по обем изследователска работа, получените резултати, научните и научно приложните приноси, а също така цялостната изследователска и преподавателска дейност на Кристина Василева Божинова, съм дълбоко убеден, че тя изпълнява напълно препоръките за критериите при придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ за професионално направление „Химически науки,„. Съгласно ЗРАСРБ тя отговаря напълно на изискванията за присъждане на образователната и научна степен „доктор” по професионално направление 4.2 Химически науки (Аналитична химия) . Ще гласувам с „ Да” и приканвам членовете на уважаемото жури да гласуват с „Да” за присъждането на научната степен.

29.06.2017 г

Рецензент :  
(проф. дхн Стоян Александров)