

Становище

От **проф. Златка Димитрова Димитрова, дфн**, ръководител на УНАЛ по Социална фармация, катедра по Физикохимия, Факултет по химия и фармация при СУ "Св. Кл. Охридски"-София, определена за член на Научно жури със заповед №-Р-109-92/24.02.2022г на проф. д.р Валентин Игнатов, дм- Ректор на МУ „проф.д-р Параскев Стоянов“-г. Варна.

Относно: процедура за защита на дисертационен труд на тема: "Изолиране и анализ на метилксантинова фракция, катехинова фракция и цялостен екстракт от зелен чай Банча и проучване на влиянието им върху фармакокинетиката на силденафил при плъхове" за придобиване на ОНС „доктор“ на **ас. маг. фарм. Мая Петрова Радева-Илиева**, докторант в редовна форма на обучение в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление 7.3 Фармация, по докторска програма „Фармакология“ (вкл. фармакокинетика и химиотерапия) с научен ръководител : **доц. маг. фарм. Калоян Добринов Георгиев, дфн**.

Настоящото становище е изготвено в съответствие с изискванията на ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и на Правилника за развитието на академичния състав в МУ „Проф. д-р П. Стоянов“- Варна в сила от 15.09.2020 г. (протокол №8/15.09.2020 г.), Глава II. Придобиване на научни степени, Раздел IV. Условия и ред за придобиване на ОНС „доктор“.

Данни за процедурата. Със Заповед № Р-109-57/31.01.2020г ас. маг. фарм. Мая Петрова Радева-Илиева е зачислена за докторант в редовна форма на обучение в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление 7.3 Фармация, по докторска програма „Фармакология“ (вкл. фармакокинетика и химиотерапия) в катедрата по Фармакология, токсикология и фармакотерапия към Фармацевтичен Факултет, МУ-Варна. Представени са два протокола от 2021г. за успешно положени изпити за покриване на докторски минимум по специалността фармакология и за владеене на чужд език от докторантката пред комисии, назначени със заповеди на Ректора на МУ-Варна, както и Заповед № -Р-109-92/24.02.2022г на проф. д.р Валентин Игнатов, дм- Ректор на МУ „проф. д-р Параскев Стоянов“-г.Варна за отчисляване на докторантката с право на защита на дисертационния ѝ труд след обсъждането му от катедрения съвет и решение за готовността му за насочване за публична защита. Папката с документите на докторантката съдържа всички изисквани документи.

Биографични данни и кариерно развитие на кандидата: маг. фарм. Мая Петрова Радева е завършила специалност фармация и е придобила ОКС магистър фармацевт през м. ноември 2015г във ФФ към МУ-Варна с отличен успех и е удостоена с наградата златен Гален. Носител е на годишната награда на БФС за студенти по фармация през 2014г. В момента е специализант по Фармакология и фармакотерапия. След дипломирането си е работила като стоковед в Гален 2000 ЕООД и като маг. фарм. и зам. управител на факултетската аптека „Медунифарм ЕООД“ към ФФ на МУ- Варна, а от м. януари 2016г до момента е асистент в катедрата по фармакология, токсикология и фармакотерапия на ФФ към МУ-Варна.

Актуалност и значимост на дисертационния труд. Историите за откриването на зеления чай са повече мит, отколкото реалност подобно на невероятната легенда за откриването на зелен чай в Китай случайно. Един ден Шен Нун, лидер на Китай, варял вода под чаено дърво,

когато няколко листа случайно паднали във врящата вода и така бил направен първият зелен чай. След като изпил отварата от запарени чаени листа, Шен Нун, който бил и експерт в медицината по онова време, открил свойствата и благоприятното въздействие на чая и веднага включил листата от зелен чай в списъка с билки, използвани в медицината. Факт или измислица, зеленият чай се използва в Китай в продължение на повече от 4000 години като лекарство.

Зеленият чай е внесен от Китай в Япония от будистки монаси в началото на IX в. Първоначално тази напитка е била достъпна само за висшата класа и е използвана като лекарство. В края на XII век известния свещеник Енсай започва да използва чая матча за религиозни цели в Япония. Той пише първата книга, посветена на чая, фокусирайки се върху благоприятните ефекти на напитката за здравето и медицинските ѝ качества като ограничаването на ефекта на алкохола върху организма, стимулиращото ѝ въздействие, утоляването на жаждата, подпомагането при лошо храносмилане, подобряването на мозъчната функция и т.н. Това дава на зеления чай широка популярност сред хората. Между IX и XV в. производството на зелен чай чрез запарване, печене и пържене на тиган започва в различни части на Япония и производството на традиционните японски чайове сенча и гюкуро става все по-разпространено. Скоро зеленият чай е признат за най-популярната напитка на нацията.

В научната и популярната литература са установени следните 8 полезни ефекти от употребата на зелен чай: подпомага редукцията на теглото, повишава аеробната активност, подпомага имунитета и действа против възпалително, може да намали риска от диабет от тип 2, действа превантивно срещу сърдечно-съдови заболявания, може да ви помогне да доживеете до дълбока старост, служи като средство за превенция срещу някои видове рак-на гърдата, дебелилото черво и на простата и подпомага ученето и паметта.

Зеленият чай, обаче е доказано, че в комбинация с определени лекарства и вещества, може да причини сериозни здравословни проблеми. Той не трябва да се комбинира със **стимуланти** като амфетамини или ефедрин, с **пристрастяващи вещества** като кокаин и никотин. Трябва да се внимава при прием на **зелен чай заедно с лекарства и вещества** като: аденозин, антибиотици, контрацептиви, естрогени, лекарства за депресия, черен дроб, сърце, стомах, кръвоносна система.

Съставът на зеления чай може да варира в широки граници, в зависимост от редица фактори като условията, при които се отглеждат чаените растения, времето за събиране на листата, процесите на обработка след събиране и условията на съхранение. Различията в съдържанието на БАВ е свързано и с различни органолептични свойства на чаените листа и съответно на чаената напитка след приготвяне. В допълнение, налични са различни видове зелен чай, например китайски, японски, корейски и други, в зависимост от географските условия, при които са отгледани чаените растения, като е установено, че това също оказва влияние върху качествено и количествено съдържание на БАВ. Например, един от най-често консумираните видове зелен чай в Япония се нарича Банча. Той се получава от чаените листа, които се събират в края на лятото или началото на есента, т.нар. късно сезонно бране, докато от първата и втора реколтата листа се получава чаят Сенча. Чаят сенча съдържа най-високите нива на катехин EGCG (епигалокатехин галат), в сравнение с всеки друг чай. Тези натурални полифеноли са силни антибактериални и антивирусни агенти, укрепват стените на капилярите, спомагат за освобождаването на тялото от тоскични съединения. Много учени смятат, че EGCG играе положителна роля в борбата на организма с рака. Полифенолите действат като бариера

в усвояването на холестерола в организма и помагат да се елиминира излишния холестерол. Редовният прием на Сенча предпазва тялото от сърдечни болести и атеросклероза. Антиоксидантните свойства на тази напитка помагат за запазване на младостта на кожата, намаляване на бръчките и хидратиране. Въздейства благоприятно при възпалена и увредена кожа. Гаргара със сенча води до голямо облекчение при възпалено гърло или кашлица. Чайт има високо съдържание на витамин С, което го прави полезен по всяко време.

Има данни, че зеленият чай Банча съдържа по-малко количество БАВ, в сравнение с други популярни видове японски зелен чай, например Сенча и Матча, но информацията в научната литература относно съдържанието на активни вещества, потенциалните терапевтични и токсични ефекти на този вид японски зелен чай, както и потенциалът да участва в лекарствени взаимодействия е доста оскъдна, въпреки че Банча е един от масово употребяваните чайове в Япония. Това е причината докторантката да избере за провеждане на проучванията в този дисертационен труд именно този вид японски чай Банча.

Освен това като се вземат предвид докладваните към момента взаимодействия между екстракта от зелен чай и/или ЕГКГ с лекарства, субстрати на CYP3A4 се налага провеждането на допълнителни проучвания за откриване на потенциални взаимодействия. Sildenafil е селективен инхибитор на ензима фосфодиестераза тип 5 (ФДЕ5), използван в терапията на еректилна дисфункция и белодробна артериална хипертония. В допълнение, има данни, че sildenafil е субстрат на P-гр. Именно лекарства с висока проникваемост, които се подлагат на значителен метаболизъм, какъвто е sildenafil, често участват в лекарствени взаимодействия. Още повече, поради значителния принос на CYP3A4 в метаболизма на sildenafil, едновременното му приложение с лекарства, храни, напитки или билкови екстракти, които повлияват активността на този ензим, може да доведе до възникване на фармакокинетични взаимодействия. Те от своя страна могат да станат причина за повишена токсичност на sildenafil или неуспех на терапията. В допълнение, предвид наблюдаваната *in vitro* инхибиция на CYP3A4 от метилксантинови фракции, изолирани от Банча и Пу-ер чай и чист кофеин, докторантката предполага, че е възможно да възникне фармакокинетично взаимодействие *in vivo* след едновременно приложение на sildenafil и метилксантини, в частност кофеин. Дисертационният труд има за цел да провери изложената хипотеза. Това определя актуалността и значимостта на този дисертационен труд.

Обща характеристика на научно-изследователската и научно-приложната дейност на кандидата. Представеният ми за изготвяне на становище дисертационен труд на тема: "Изолиране и анализ на метилксантинова фракция, катехинова фракция и цялостен екстракт от зелен чай Банча и проучване на влиянието им върху фармакокинетиката на силденафил при плъхове " е в обем от 109 стр. и включва следните основни части :Въведение-3 стр., Литературен обзор-46 стр., Цел и задачи- 2 стр., Материали и методи-17 стр., Резултати-18 стр., Дискусия-21 стр., и Изводи-2 стр. Библиографският списък включва 392 заглавия, от които 299 са на латиница и 3 –на кирилица. Преобладаващият брой на ползваните публикации са от последните 10 години.

Литературният обзор показва добрата осведоменост на докторантката по обсъжданите въпроси:**1.** Съдържание на биологично активни вещества в зеления чай, /Методи за анализ на екстракти от зелен чай, Потенциални токсични ефекти на екстракта от зелен чай,/ **2.** Лекарствени взаимодействия и взаимодействия между лекарства и фитопрепарати/храни/напитки,/ Регулация на лекарствени продукти и фитопрепарати, Видове

лекарствени взаимодействия, Взаимодействия между конвенционални лекарства, Взаимодействие между конвенционални лекарства и фитопрепарати, Взаимодействия между конвенционални лекарства и екстракт от зелен чай и/или негови компоненти, Взаимодействия между sildenafil и фитопрепарати/храни/напитки,/ 3.Методи за проучване на лекарствени взаимодействия,/ Физиологично базиран фармакокинетичен (ФБФК) модел, Конструирание на ФБФК модел, Софтуер за изготвянето на ФБФК модел, Верификация на ФБФК модел, Приложение на ФБФК моделирането./ Силно съм впечатлена от професионално отговорното и критично отношение на дисертантката към липсата всъщност на строга регулация относно хранителните добавки, съдържащи растителни вещества ,най-често под формата на екстракт у нас. Фитопрепаратите, които са регистрирани като хранителни добавки не подлежат на задължителни предклинични и клинични изпитвания преди да бъдат пуснати на пазара, поради което е възможно тяхната фармакокинетика, фармакологична активност и токсикологичен профил да не са напълно проучени и изяснени. В допълнение, на пазара се срещат дори хранителни добавки, съдържащи растителни екстракти, които не са стандартизирани. Обзорът е онагледен с 5 таблици и много структурни формули. Така научните изследвания в дисертационния труд са насочени към по-задълбочено проучване на потенциалните взаимодействия, които биха могли да възникнат при едновременна употреба на различни видове зелен чай и конвенционални лекарства.

Целта и петте задачи са формулирани много точно и ясно, подбрани са подходящи съвременни методи за тяхното реализиране, много прецизно и последователно са представени отделните етапи на проучването и са дискутирани получените резултати. Статистическият анализ е извършен с помощта на GraphPad Prism, версия 9.2.0. Резултатите са изразени като средна стойност \pm стандартно отклонение (SD). Статистическите сравнения между изчислените фармакокинетичните параметри за различните групи в двата експеримента са извършени с помощта на дисперсионен анализ (ANOVA), последван от тест на Dunnett. За статистически значима се приема p -стойност ≤ 0.05 (двустранен тест).Резултатите са представени текстуално и са онагледени с много снимки, 27 фигури и 14таблици.

В резултат от проведените изследвания в дисертационения труд са изведени подходящи изводи, които логично произтичат от резултатите от проучванията.

Основни научни и научно приложни приноси. Приемам справката на докторантката за научните приноси на дисертационния й труд.Основните научни и научно -приложни приноси в дисертацията са нови или потвърдени научни факти, които са резултат от проведените от ас. маг. фарм. Мая Петрова Радева-Илиева изследвания и могат да се обобщят в 3 –те групи по следния начин:

ПРИНОСИ С ОРИГИНАЛЕН ХАРАКТЕР:

❖ За пръв път в България са изолирани и анализирани ТЕ, КФ и МФ от японски зелен чай Банча и са проведени фармакокинетични проучвания, които доказват влиянието на многократното приложение на ТЕ, КФ и МФ и и еднократното приложение на МФ от японски зелен чай Банча върху плазмените концентрации на sildenafil при експериментални животни, с цел оценка на потенциални взаимодействия.

❖ Разработени и приложени са статичен и динамичен ФБФК модели за предсказване на потенциални взаимодействия между sildenafil и КФ или МФ от зелен чай, както самостоятелно, така и при комбинирано приложение, при хора.

ПРИНОСИ С НАУЧНО-ПРИЛОЖЕН ХАРАКТЕР:

❖ Разработен и валидиран е селективен и надежден HPLC-UV метод за качествено и количествено определяне на ЕГКГ, (+)-катехин, галова киселина и кофеин в проби от японски зелен чай Банча, който може да бъде използван при анализа на други видове чай, както и на други растителни екстракти, съдържащи посочените съединения.

❖ Разработен и валидиран е чувствителен и надежден HPLC-UV метод за качествено и количествено определяне на sildenafil в плазмени проби от експериментални животни, който може да бъде използван при анализа на sildenafil в здравни заведения или други институции, провеждащи анализ на лекарства в биологични проби.

ПРИНОСИ С ПОТВЪРДИТЕЛЕН ХАРАКТЕР:

❖ Потвърдени са по-ниското количествено съдържание на ЕГКГ и кофеин в зеления чай Банча и ефикасността на протеинната преципитация в подготовката на плазмени проби от експериментални животни, третирани със sildenafil.

Отражение на научните публикации на кандидата в литературата

По темата на дисертационния труд са представени 3 публикувани научни статии, две от които са публикувани в чуждестранни списания с IF и 3 участия с постери на научни форуми у нас. Има документирано участие в два научни проекта с ръководител доц. Калоян Георгиев, д.ф.н през 2019 и 2020г, финансирани от Фонд „Наука“ към Медицински Университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“, гр. Варна.

Заклучение. Дисертацията на ас. маг. фарм. Мая Петрова Радева-Илиева съдържа нови научни факти с особена актуалност за областта на лекарствената фармакология и фармакокинетиката и социална значимост. Резултатите от изследванията в дисертацията и тяхната интерпретация са на високо научно ниво, публикувани са в специализираната медицинска литература и са докладвани на научни форуми у нас с чуждестранно участие. Научният труд изпълнява всички изисквания на ЗРАСРБ и на Правилника за приложението му/ППЗРАСРБ/ и на Правилника за развитие на академичния състав в МУ „Проф. д-р П. Стоянов“ – Варна за придобиване на ОНС „доктор“. Давам положителна оценка на този дисертационен труд и напълно убедено ще подкрепя присъждането на ОНС „доктор“ на ас. маг. фарм. Мая Петрова Радева-Илиева по докторска програма „Фармакология“/вкл. фармакокинетика и химиотерапия/ като гласувам със „За“.

28.03.2022г,

Изготвила становището:

/ проф. Зл. Д. Димитрова, дфн/