

## СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Рени Емил Калфин, дб - Институт по невробиология, БАН

на проект за дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен **'Доктор'**

професионално направление 7.3. „Фармация“  
докторска програма „Технология на лекарствените форми и биофармация“

**Автор:** Асистент Николай Станчев Захариев

**Форма на докторантурата:** редовна докторантура

**Катедра:** „Фармацевтични науки“ на Фармацевтичен факултет при Медицински университет - Пловдив

**Тема:** НАНОРАЗМЕРНИ НОСИТЕЛИ ЗА НАСОЧЕНА ДОСТАВКА НА ЛЕКАРСТВА ЗА ПРОТИВОТУМОРНА ТЕРАПИЯ

**Научен ръководител:**

Доц. Бисера Пиличева, дф - Медицински университет, Пловдив

### 1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Автор на дисертационния труд е магистър-фармацевт асистент Николай Станчев Захариев – редовен докторант в Катедра „Фармацевтични науки“ при Фармацевтичен факултет на Медицински университет-Пловдив, с научен ръководител доцент Бисера Пиличева, дф.

Представеният от докторанта комплект материали включва следните документи:

- автобиография в европейски формат с подпис на докторанта
- нотариално заверено копие от диплома за висше образование
- заповеди за зачисляване в докторантура и за отчисляване с право на защита
- сертификат за преминалото обучение в Докторантското училище на МУ-Пловдив и получени кредити
- протокол от катедрен съвет за предварително обсъждане на дисертационния труд и взетите решения за разкриване на процедура и за състав на научно жури
- дисертационен труд
- автореферат
- списък на научните публикации по темата на дисертацията
- копия на научните публикации
- списък на участията в научни форуми
- списък на забелязани цитирания

- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи

Документите на Захариев са в пълно съответствие с чл.70 (1) от раздел първи „Придобиване на образователна и науча степен „ДОКТОР“ в Медицински университет – Пловдив и Правилника на МУ-Пловдив от 28.01.2021 г. При обучението си в Докторантското училище асистент Николай Захариев е получил общо 141 кредити при задължителен минимум от 129 кредити.

Във връзка с дисертационния труд докторанта е приложил към документите си три броя публикации на научни статии и един полезен модел.

Декларирам, че нямам конфликт на интереси по смисъла на чл. 4 (ал. 5) от Закона за развитие на академичния състав в Република България и нямам общи публикации с Николай Захариев.

Николай Станчев Захариев е роден на 12 август 1993 г. в Златоград. През 2018 г. той завършва петгодишен курс на обучение в Медицински университет – Пловдив и придобива образователно-квалификационната степен „Магистър“ по специалността „Фармация“. Николай е член на екипа на шест научноизследователски договора и е бенефициент от Националната научна програма „Млади учени и постдокторанти“. Владее писмено и говоримо английски език на добро ниво. Той е отговорник по научната дейност и международното сътрудничество към Катедра „Фармацевтични науки“ на Медицински университет – Пловдив.

На 15 декември 2021 г. асистент Николай Захариев е зачислен в редовна докторантура, а на 22 март 2024 г. той е отчислен с право на защита.

## **2. Актуалност на тематиката**

Темата на предоставеният ми за становище дисертационен труд е свързана с едно от най-сериозните предизвикателства пред съвременната медикобиологична наука – търсенето на нови антитуморни препарати с висока ефективност и добра биологична поносимост, които насочено да стигат до раковите клетки. В доклад на Международната агенция за изследвания на рака към Световната здравна организация е отбелязано, че за последните 6 години болните от рак са се увеличили с 28%. Предвижданията, базирани на различни математически модели прогнозираят висок ръст (около 60%) на заболяемостта до 2040 година, като в бедните страни той ще бъде значително по-висок – около 81%. Не трябва да се пренебрегва факта, че

онкологичните заболявания са на второ място като причина за смърт. Всичко това превръща туморните заболявания в едно от най-разпространените епидемични неинфекциозни социално-значими заболявания. Независимо от големия успех в разработването и прилагането на редица оперативни и консервативни методи и постигнатите безспорни успехи, проблемът с раковите заболявания остава във фокуса на научната общност. Основните проблеми, съпътстващи съвременната химиотерапия на злокачествените новообразувания, са високата токсичност и феноменът множествена лекарствена устойчивост. Всичко това налага необходимостта от търсене на нови агенти с насочено антинеопластично действие и добра биологична поносимост. Разработването на иновативни лекарствени системи, които да осигурят насочена доставка на цитостатици в прицелните туморни клетки, като по този начин да постигнат максимален противотуморен ефект от една страна и да ограничат нежеланите лекарствени реакции от друга, е с приоритетно значение. Всичко казано до тук показва актуалността на дисертационния труд в научно и научно-приложно отношение и обосновава необходимостта от проведените изследвания.

### **3. Познаване на проблема**

Въпросът за познаването на проблема от докторанта намира своя отговор в представения от него литературен обзор. В началото на литературната справка Николай представя основните характеристики на наночастиците като лекарстводоставящи системи и обобщава в таблица кои са одобрени от тях за клинично приложение при ракови заболявания. Докторантът подчертава, че целта при разработване на наноразмерни лекарстводоставящи системи е да се оптимизира техния фармакокинетични профил и стабилност посредством контрол върху скоростта и степента на освобождаване на лекарственото вещество, също така да се ограничи влиянието на факторите на околната среда.

Поради наличието на йонизиращи функционални групи, полимерните наноносители могат да претърпяват обратими или необратими структурни промени в зависимост от рН на околната среда, като за разлика от други стимул-чувствителни носители, активността на рН-чувствителните наноносители не зависи от външни фактори, а се определя единствено от вариациите на рН в организма. Докторантът добре е обобщил в таблица

вариациите на рН както по протежение на стомашночревния тракт, така също в ендозоми и лизозоми при здрави и съответно при ракови клетки.

Сред най-често използваните рН-чувствителни полипептиди са млечните протеини лактоглобулин и казеин. Затова третият раздел от литературната справка е посветен именно на семейството калций-фосфат свързващи фосфопротеини (казеин) като носител за лекарстводоставящи системи. Графично са представени ефектите на рН върху структурата на казеиновия мицел и включването на лекарствената форма в този мицел. Докторантът се спира върху стратегиите за омрежаване на протеини и видовете омрежаващи агенти.

В четвъртата глава от литературния обзор Николай обобщава методите за получаване на полимерни наночастици и разглежда обстойно разпръсквателното сушене като бърз, лесен и възпроизводим метод за получаването на микро- и наноразмерни носители.

Петият раздел на литературната справка логично е посветен на даунорубицин и неговото приложение в антитуморната химиотерапия, тъй като целта на дисертационния труд е да се разработи модел на лекарстводоставяща система за насочена доставка и контролирано освобождаване на даунорубицин от носителя, което да доведе до ограничаване на нежеланите лекарствени реакции в хода на терапията.

Като цяло литературният обзор е написан с опит и знания. В заключение оценявам положително аналитичния подход на Николай Захариев, познанията му върху изследвания проблем и творческата оценка на литературния материал.

#### **4. Методика на изследването**

Казеиновите частици са получени по метод на коацервация с последващо разпръсквателно сушене. На базата на предварително изведените оптимални условия за получаването на казеинови наночастици са разработени четири модела наночастици натоварени с даунорубицин при вариране на съотношението полимер:лекарствено вещество. Казеин/фукоидан композитните наночастици докторанта получава чрез полиелектролитно комплексообразуване, омрежване на комплекса с глутаралдехид и последващо разпръсквателно сушене. Въз основа на предварително определени оптимални условия за получаването на казеинови/фукоидан композитни наночастици са разработени три модела натоварени с даунорубицин наночастици при

съотношение казеин:фукоидан 1:1 и вариране на концентрацията на омрежващият агент 1 % (w/v), 2 % (w/v), 3 % (w/v) и интензитета на разпрашаване (30 %, 40 %, 50 %). Размерът, разпределението по големина и зета потенциалът на получените частици са определени чрез динамично светоразсейване. За визуализиране на повърхностната морфология на частиците е използван сканиращ микроскоп, докато формата на частиците е изследвана посредством трансмисионен електронен микроскоп. Размерът на нанокomпозитните микрочастици и разпределението им по големина са определени чрез лазерна дифракция с анализатор на сухи и мокри дисперсии. Влиянието на различни вещества върху митохондриалната функция е отчетено с помощта на МТТ тест. Фазовото състояние на лекарственото вещество е изследвано посредством прахова рентгенова дифрактометрия, термогравиметричен и диференциален термичен анализ и диференциална сканираща калориметрия. Изследвани са промените в спонтанната съкратителна активност на гладко мускулни препарати след въздействие с даунорубицин и даунорубицин натоварени наночастици.

В заключение докторантът използва много богат набор от експериментални методики, които позволяват да се стигне до отговор на задачите, решавани в дисертационния труд.

## **5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите**

Трудът е написан на 156 страници по стандартната схема и включва всички раздели, препоръчани за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ в Медицински университет – Пловдив. Дисертационният труд е правилно конструиран, много добре написан и богато онагледен с 50 фигури и 20 таблици. Библиографията се състои от 232 описани коректно литературни източници, които отговарят на задачите и целите на дисертацията.

Главата „РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ“ е най-важната част от изследванията на докторанта. Експерименталните резултати са представени ясно и конкретно, като следват хода на поставените цели и задачи. Получените резултати са многобройни и тяхното научно-приложно значение ще нараства. Обсъждането на резултатите очертава докторанта като знаещ изследовател. Още веднъж в обсъждането проличава логиката на проведените научни изследвания и могат да се видят насоки за бъдещи експерименти.

**Изводите и приносите** обобщават получените от докторанта експериментални данни. В дисертационния си труд Николай достига до

оригинални резултати. Един от най-важните приноси е, че за пръв път е предложен модел на наночастици, базиран на казеин, за включване на химиотерапевтика даунорубицин. Оригинален е предложеният модел за изследване на спонтанната съкратителна активност на гладки мускули, който да бъде алтернатива на *in vitro* изследванията за степен на освобождаване, позволяващ оценка на биологичния ефект в реално време.

С приносен характер е разработената лекарстводоставяща система, съчетаваща казеин и фукоидан в една и съща композитна наноструктура.

Трябва да се отбележи практическата насоченост на получените резултати в дисертационния труд, които представляват интерес за лечебната медицинска практика.

## **6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта**

Николай Захариев лично участва в проведеното дисертационно изследване, в експерименталната работа и в статистическата обработка на получените данни. Доказателство за личното участие на докторанта са приложените от него публикации по темата на дисертацията, във всички от които той е първи автор. Приносите на дисертационния труд, отбелязани от докторанта, са негово дело, получени с подкрепата и съдействието на научния ръководител.

Както е традиция при възпитаниците на доц. Пиличева, всички статии във връзка с дисертацията са в списания с най-високия квартал Q1, видими са за международната научна общност и в случая са цитирани вече 14 пъти. През миналата година е регистриран също така един полезен модел с автори Николай Захариев и Бисера Пиличева.

Докторантът е докладвал резултати, получени при разработването на дисертационния си труд, на четири конференции в България и на два симпозиума за млади учени в Сегед, Унгария. Във всички тези съобщения на научни форуми Захариев е първи автор.

## **7. Автореферат**

Авторефератът напълно съответства на съдържанието на дисертационния труд и от него може да се добие много добра представа за направеното научно изследване. Оформен е добре. Включени са всички основни за дисертационния труд резултати, техният анализ и обсъждане. Както

и в самата дисертация, графичните материали и тяхната статистическа обработка са прецизно направени.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение дисертационният труд на асистент Николай Захариев е посветен на актуален за фармацията и медицинската практика проблем. При изпълнението на задачите Николай показва много добро познаване на експерименталните постановки и методики, зрялост при представянето и интерпретирането на резултатите и задълбочени професионални умения по научната специалност „Технология на лекарствените форми и биофармация“. При разработването на дисертацията Николай Захариев е получил оригинални експериментални данни, които имат не само научна стойност, но представляват интерес за лечебната медицинска практика.

Представените резултати и научни публикации във връзка с дисертационния труд отговарят напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, на Правилника за неговото приложение и Правилника на Медицински университет – Пловдив за приложение на ЗРАСРБ.

Предвид достатъчният по обем материал, цялостното оформление на разработката, демонстрираните качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване от докторанта и получените резултати с оригинален приносен характер, доказателство за което освен трите публикации с най-висок квантил е също така регистрираният полезен модел, давам своята **положителна оценка** и с убеденост предлагам на почитаемите членове на Научното жури да присъдят образователната и научна степен „Доктор“ на Николай Станчев Захариев в докторска програма по „Технология на лекарствените форми и биофармация“ в професионално направление 7.3. „Фармация“.

21 май 2024 г.

Изготвил становището: 

Заличено на основание  
Чл.5 §1, б.„В“ Регламент (ЕС)2016/679

Проф. д-р Рени Калфин