

В І Д Г У К

офіційного опонента на дисертаційну роботу

ШАХМАЄВА АНТОНА ЄВГЕНОВИЧА

«Розробка технології одержання ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону, що має кардіопротекторну дію», яка представлена до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.02 при Національному фармацевтичному університеті для захисту на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.01- технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація

Актуальність теми.

Серцево-судинні захворювання (ішемічна хвороба серця, артеріальна гіпертензія, інфаркти, інсульт) займають провідне місце серед захворювань в Україні. Для лікування таких захворювань актуальним є застосування гідрофобних антиоксидантів, таких як кверцетин, вітамін Е, убідекаренон тощо.

З перелічених антиоксидантів, убідекаренон вважається найбільш перспективним антиоксидантом для застосування у клінічній практиці. Він є кофенментом, який синтезується в організмі людини, але з віком його концентрація істотно знижується, що призводить до зростання ризику розвитку серцево-судинних захворювань.

Убідекаренон застосовують в медичній практиці у вигляді порошків, таблеток та капсул у великих дозах, оскільки його біодоступність вкрай низька. В основному це пов'язано з його гідрофобними властивостями. Збільшити біодоступність убідекаренону можливо за рахунок створення водорозчинної ін'єкційної форми даного препарату. Цього можна досягнути, включивши убідекаренон в наночастинки, наприклад, в ліпосоми. Тому розробка ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону є актуальною.

Для досягнення поставленої мети автором вирішені такі завдання:

– проведений аналіз джерел літератури щодо гідрофобних антиоксидантів при лікуванні серцево-судинних захворювань, систематизовано та узагальнено можливість використання для лікування ліпосомальних форм препаратів, до складу яких входять гідрофобні антиоксиданти;

- проведені маркетингові дослідження фармацевтичного ринку України з питання забезпечення лікарськими препаратами, що містять убідекаренон;
- на основі комплексу фізико-хімічних та біофармацевтичних досліджень обґрунтовано склад діючих та допоміжних речовин у складі ін'єкційного препарату;
- на основі фізико-хімічних та фармакотехнологічних досліджень проведено вибір концентрації діючих речовин з метою створення ефективного ЛС лікарського препарату УК;
- розроблена оптимальна промислова технологія ліпосомального ін'єкційного лікарського препарату;
- проведені біофармацевтичні, фармакологічні та фізико-хімічні дослідження розробленого препарату та визначені основні показники якості. Апробовані методики кількісного визначення компонентів на основі яких розроблено проект МКЯ;
- визначена специфічна активність та біологічна нешкідливість лікарського препарату;
- проведені дослідження з вивчення стабільності препарату та визначені умови зберігання;
- розроблена нормативно-технічна документація, технологія виробництва препарату апробована в промислових умовах.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного технічного університету «Харківський політехнічний інститут» («Дослідження фізико-хімічних властивостей наночастинок (штучних мембран – ліпосом), що містять антиоксидантні сполуки» № держреєстрації 0110U001667) та проблемної комісії «Фармація» МОЗ і НАМН України (протокол № 95 від 17.02.2016 р.).

Наукова новизна досліджень.

Автором вперше на основі фармакотехнологічних, фізико-хімічних, фармакологічних та мікробіологічних досліджень теоретично та експериментально

обґрунтований склад та технологія оригінальної лікарської ліпосомальної форми убідекаренону для лікування кардіологічних захворювань.

На основі теоретичного обґрунтування та експериментальних досліджень визначено якісний та кількісний склад діючої та допоміжних речовин.

Вперше експериментально обґрунтовано доцільність введення в ліпосомальний препарат, що містить гідрофобну речовину – убідекаренон, негативно заряджених фосфоліпідів, які дозволяють збільшити включення убідекаренону в мембрану ліпосом. Розроблена технологія приготування ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону.

Встановлена фармакологічна активність препарату на моделі інфаркту міокарда та ішемічної хвороби серця. Вивчено оптимальні умови та термін зберігання препарату протягом 2 років.

Розроблені сучасні методики ідентифікації та кількісного визначення убідекаренону які ввійшли до проекту МКЯ. За результатами досліджень отримано 2 патенти України на корисну модель № 85306 та № 91702.

Практичне значення отриманих результатів. На підставі проведених досліджень Шахмаєвим А.Є. розроблено та запропоновано для практичної медицини оригінальний ліпосомальний ін'єкційний препарат, що містить убідекаренон для лікування кардіологічних патологій.

Розроблено проект технологічного регламенту для виробництва препарату, а також проект МКЯ. Визначено критичні параметри технологічного процесу та здійснено його апаратурне оформлення.

Технологію виробництва та методики контролю якості лікарського препарату апробовано в умовах промислового виробництва ТОВ «Наномедтех» (акт впровадження від 18.01.2016 р.), а також ПАО «Фармак» (акт впровадження від 16.03.2016 р.).

Фрагменти роботи впроваджено у науково-педагогічний процес: кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії «Національного технічного університету «Харківський політехнічний інститут» (акт впровадження від 04.05.2016 р.); кафедри органічного синтезу і нанотехнологій Національного технічного

університету «Харківський політехнічний інститут» (акт впровадження від 18.11.2016 р.); кафедри онкології та дитячої онкології Харківської медичної академії післядипломної освіти (акт впровадження від 14.03.2017 р.); у виробничий процес підприємства «Фармсинтез» при розробці ліпосомальних лікарських препаратів ін'єкційної форми та очних крапель (акт впровадження від 26.12.2016 р.); у науково-дослідний процес ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» при розробці та апробації методів контролю якості ін'єкційної форми ліпосомальних лікарських препаратів (акт впровадження від 10.01.2017 р.).

Особистий внесок здобувача. Автором дисертаційної роботи особисто проведено аналіз та узагальнення літературних даних з досліджуваної проблеми. Проведено експериментальні дослідження з вибору типу основного мембраноутворюючого фосфоліпиду для конструювання ліпосом, визначений метод включення діючої речовини до ліпосом, технологічні параметри ведення процесу. Проведено фармакологічні дослідження на моделях ішемічної хвороби серця та інфаркту міокарда на експериментальних тваринах – щурах.

За допомогою фізико-хімічних та біологічних методів експериментально було обґрунтовано та розроблено склад ліпосомальної форми убідекаренону під умовною назвою «Ліпосомальна форма убідекаренону, ліофілізат для ін'єкцій у флаконах». Дисертантом розроблено методи ідентифікації та кількісного визначення речовин, що входять до складу препарату. Зазначено особистий вклад дисертанта у наукових публікаціях за співавторства. Увесь експериментальний матеріал досліджень виконано, проаналізовано та узагальнено особисто автором.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті, а також їх апробації. Основні положення дисертаційної роботи пройшли апробацію на науково-практичних конференціях: XX Міжнародній науково-практичній конференції «Інформаційні технології: наука, техніка, технологія, освіта, здоров'я» (Харків, 2012); XI Всеросійській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Отечественные противоопухо-

левые препараты (экспериментальная онкология)» (Нижній Новгород, 2012); Міжнародній дослідницькій та практичній конференції «Nanotechnology and nanomaterials» (Буковель, 2013), I Міжнародній науково-практичній конференції «Хімія, біо- та нанотехнології, екологія та економіка в харчовій та косметичній промисловості» (Щолкіно, 2013); II Міжнародній науково-практичній конференції «Хімія, біо- та нанотехнології, екологія та економіка в харчовій та косметичній промисловості» (Харків, 2014).

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 15 наукових праць, зокрема: 7 статей у фахових виданнях, з них 2 статті у закордонних виданнях, які входять до міжнародних наукометричних баз; 5 тез доповідей; отримано 2 патенти України на корисну модель (№ 91702, № 85306). Це відповідає Наказу № 1112 від 17.10.2012 р. Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України «Про опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук».

Дисертаційна робота викладена на 225 сторінках друкованого тексту, основний зміст роботи – на 172 сторінках, складається зі вступу, п'яти розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел та додатків. Робота ілюстрована 34 таблицями та 27 рисунками. Список використаної літератури містить 169 джерел, з них 99 кирилицею і 70 латиницею.

Наукові положення, висновки і рекомендації дисертаційної роботи Шахмаєва А.Є. базуються на достатньому експериментальному матеріалі. Розділи досліджень виконані з використанням сучасних фізико-хімічних, технологічних, мікробіологічних та біологічних методів. Усі експериментальні дані статистично оброблені і їх достовірність не викликає сумнівів.

Перший розділ дисертації «Сучасний стан виробництва ліпосомальних препаратів, що містять гідрофобні антиоксиданти та препарати убідекаренону» присвячений огляду літератури щодо сучасного створення ліпосомальних препаратів, що містять гідрофобні антиоксиданти та препарати на основі убідекаренону. Характеризуючи питання сучасного стану проблеми, Шахмаєв А.Є. наводить дані про широке застосування та ефективність препара-

тів на основі убідекаренону у високих дозах при пероральному прийомі в терапії серцево-судинних захворювань, відмічаючи їх переваги та недоліки, і на основі цього робить висновки про необхідність досліджень по створенню нового ліпосомального лікарського засобу для парентерального застосування.

Розглянуто та проаналізовано технологічні аспекти одержання ліпосомальних препаратів. Встановлено, що технологія промислового одержання ліпосомальних препаратів включає ряд критичних та послідовних стадій виробництва. Показано, що найбільш використовуваним методом у промисловості для одержання ліпосом є метод екструзії.

Огляд літератури систематизовано, за формою викладу він доступний, інформативний, а за змістом - достатньо характеризує стан досліджуваної проблеми, з нього логічно витікає поставлена мета і задачі власних досліджень Шахмаєва А.Є.

У другому розділі «Обґрунтування загальної концепції та методів досліджень» дисертант приводить теоретичне обґрунтування розробки складу та технології ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону (УК). Чітко сформульовані вимоги до розробки технології ліпосомальних ліофільних препаратів та поетапний план досліджень, який базується на сучасних доказових методах.

Автор також надає характеристику об'єктів, які використані в даній роботі та їх фізико-хімічні характеристики. Приводить методи досліджень, які на даний час є об'єктивними та доказовими при розробці оптимального складу і технології ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону та перевірки його якості.

Розділ третій «Розробка технології одержання ліпосомальної форми емульсії убідекаренону» дисертації присвячений експериментальному обґрунтуванню складу ліпосомального препарату на основі убідекаренону.

Розробка складу препарату базується на розробленому дисертантом алгоритмі одержання ліпосомальних препаратів.

Важливим моментом при розробці складу препарату є вибір допоміжної

речовини - мембраноутворювального ліпиду для ліпосом. При неправильному виборі може спостерігатись зниження включення у бішар діючої речовини, а також зниження її вивільнення при застосуванні.

При проведенні експериментальних досліджень із широкого кола ліпідів - фосфатидилхоліни яєчного жовтка, сої, соняшнику та синтетичні фосфоліпіди (дипальмітоїлфосфатидилхолін, диміристоїлфосфатидилхолін) дисертантом в якості мембраноутворювального ліпіда був обраний яєчний фосфатидилхолін. Вивчений його жирнокислотний склад, здатність до створення емульсії, визначений ступінь окиснення та гемолітичні властивості.

Встановлено, що для стабілізації ліпосомальної емульсії оптимальним є використання фосфатного буфера з рН 6,4-7,4. Використання фосфатного буфера з рН нижче 6,4 призводить до низької розчинності ліпідної плівки, а вище 7,4 до окиснення фосфоліпідів.

Експериментально встановлено співвідношення між убідекареноном та фосфатидилхоліном. Для одержання ліпідної плівки для розчинення яєчного фосфатидилхоліну та УК вибраний розчинник – етанол.

Розділ четвертий «Розробка технології одержання ліпосомальної форми емульсії убідекаренону» присвячений розробці технології одержання лікарської форми.

Як метод одержання ліпосом була обрана гомогенізація під високим тиском – екструзія. Даний метод має переваги, а саме висока продуктивність методу та мінімальне окиснення фосфоліпідів. Умови гомогенізації необхідно підбирати для кожного виду ліпосом, причому, визначальним є розмір ліпосом та ступінь включення субстанції.

При дослідженні технологічних режимів одержання ліпосом з включеним убідекареноном виділено 2 основних етапи. Перший етап – це одержання ліпідної плівки. Убідекаренон та ліпіди розчиняють в етанолі, з'єднують ці розчини та проводять концентрування розчину при постійному перемішуванні при температурі 38-42 °С до постійної маси. Для видалення залишкових розчинників одержану ліпідну плівку обробляли газоподібним азотом.

Другий етап – емульгування плівки у водному розчині з метою одержання мультиламелярних везикул. Встановлено, що на стабільність ліпосом та включення у бішар УК впливає іонна сила розчину, величина рН, температура проведення технологічного процесу, заряд та розмір ліпосом.

В результаті проведених експериментів було встановлено, що введення до складу ліпосом кислих фосфоліпідів, наприклад, дипальмітоїлфосфатидилгліцерину, приводило до підвищення включення УК.

Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено, що оптимальними умовами для одержання гомогенної стабільної емульсії є співвідношення УК: ФХ : ДПФГ (1:10:1) при температурі 38-43 °С, рН емульсії 6,4-7,4. Емульсія, одержана при зазначених параметрах, була стабільна та не розшарувалася протягом не менше 2,5 годин. Методом ВЕРХ було встановлена стабільність емульсії.

Вивчений режим фільтрації емульсії через низку вибраних фільтруючих мембран. Рекомендована послідовність фільтрів (1,2 мкм, 0,8 мкм, 0,45 мкм та 0,22 мкм) для відділення «вільного» УК та одержання стерильної емульсії ліпосом.

Наступним етапом досліджень було вивчення технологічних параметрів ліофілізації емульсії ліпосом. Для розробки режиму ліофілізації автором спочатку підбиралися умови заморожування емульсії. Послідовно проводили: визначення температури заморожування; підбір способу заморожування; вивчення впливу тривалості заморожування на якість кінцевого продукту. Дисертантом був використаний термічний спосіб визначення евтектичної температури, як найбільш простий. Встановлена раціональна концентрація кріопротектора лактози у складі лікарської форми убідекаренону – 80 мг/мл.

Оцінку впливу способу заморожування та режиму сушіння на якість ліофілізату проводили за наступними показниками: зовнішній вигляд препарату, втрата в масі при висушуванні, розчинність, розмір наночастинок, значення рН, кількісний вміст УК.

Рекомендовано проводити ліофілізацію за обраним автором режимом №3. Запропоновано обґрунтовану технологію швидкого заморожування та ліофілізації ліпосомальної наноемульсії убідекаренону. Проведені дослідження по вибору первинного пакування, вивчено вплив світла та окисників на стабільність ліпосомального убідекаренону. Рекомендовано використовувати в якості первинного пакування скляні світлозахисні флакони, які захищають компоненти препарату від дії світла.

Розділ п'ятий «Методи контролю якості розробленого препарату» присвячений розробці методик якісного та кількісного визначення основної діючої речовини убідекаренону та фосфоліпідів в ліофілізаті для ін'єкцій.

Запропоновано проводити кількісне визначення убідекаренону та фосфоліпідів в лікарській формі за допомогою методу ВЕРХ.

В процесі одержання ліпосомальної емульсії використовують розчинник етанол. Органічні розчинники видаляють на двох етапах технології: одержанні плівки при вакуумно-роторному випаровуванні та потім з водної емульсії при ліофілізації. Контроль етанолу проводять методом ГХ. Для вивчення стабільності препарату «Убідекаренон ліпосомальний, ліофілізат для приготування розчину для ін'єкцій 20 мг у флаконі» дисертантом запропоновано в специфікацію внести наступні розділи: опис, ідентифікацію, час утворення емульсії, однорідність маси, рН, розмір частинок, сторонні домішки, втрата в масі при висушуванні, пірогенність, стерильність, кількісне визначення, умови зберігання, термін придатності.

Незмінність вказаних показників стало фактором констатації стабільності препарату і слугувала підґрунтям для складання аналітичної нормативної документації – нормативного документу (МКЯ – методи контролю якості), що визначає якість даного лікарського препарату при його виробництві та зберіганні протягом 2-х років.

У цьому розділі дисертації також наведено результати фармакологічних та біофармацевтичних досліджень. Визначено специфічну активність та біологічну нешкідливість лікарського препарату. Фармакологічними дослідженнями

на моделях інфаркту міокарда та ішемічної хвороби серця у щурів доведена раціональна концентрація убідекаренону та яєчного фосфатидилхоліну у складі ліпосомальної форми.

Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень, висновків і практичних результатів.

Всі проведені дослідження Шахмаєвим А.Є. виконані на сучасному науковому рівні. Розділи дисертаційної роботи закінчуються висновками, які витікають з розглянутих пошуків і експериментальних даних одержаних автором.

При виконанні цієї необхідної з практичної точки зору роботи дисертант використовував хімічні та фізико-хімічні методи, включені до Державної Фармакопеї України. Добра обізнаність з хімічними та фізико-хімічними методами досліджень, розуміння важливості технологічного впливу на стабільність розробленого лікарського засобу дає всі підстави вважати дисертаційну роботу Шахмаєва Антона Євгеновича в цілому, завершеним дослідженням з позитивними результатами.

Разом з цим до роботи є декілька зауважень та рекомендацій, серед яких, на мій погляд, можна назвати такі:

1. При викладенні матеріалу дисертаційної роботи зустрічаються невдалі вирази, наприклад:

- на с. 4 та ін. «Це у свою чергу припускає використання температури вище 50 °С» . Краще писати «використання температурного режиму»
- на с. 5, 89,93, 99, 104 та ін. слід писати стерилізуюча фільтрація», а не «стерилізувальна».
- «Проведений нами аналіз літератури та фармацевтичного ринку показав відсутність готової лікарської ліпосомальної форми УК». Треба було б уточнити, що саме ін'єкційної форми так як інші присутні на ринку.

2. С. 86. Доцільно було б вказати тип та матеріал фільтруючих мембран при проведенні стерилізуючої фільтрації ліпідів у розчині органічного розчинника, наприклад, ФХ в етанолі або дипальмітоїлфосфатидилхоліну у суміші

хлороформу та етанолу тому, що не всі матеріали підходять для таких розчинників.

3. С.88. Вислів «Наявність у фосфатидилхоліні рослин» краще писати «Наявність у фосфатидилхоліні рослинного походження...»

4. С.94. «Насичення емульсії інертним газом або азотом ...» Необхідно писати більш точноше так як азот є також інертним газом

5. С. 107, 109 та 146. Слід було б точноше зробити посилання на стерилізуючу фільтрацію тому, що не зрозумілий вислів «дозволяє проводити стерилізуювальну фільтрацію крізь низку мембран з фінішним фільтром 0,22 мкм» Стерилізуючу фільтрацію можливо проводити тільки через фільтр з діаметром пор 0,22 мкм.

6. С. 109. Невдалий вираз «після обробки за температури 38-43 °С»

7. С.118. Невдалий вираз «сталості включеного до ліпосом УК». Краще писати «стабільності»

8. С. 130 – 131. Вивчення світло стабільності необхідно проводити згідно з настановою 42-3.3:2004, п.5.2. «Настанова з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності».

9. С. 161. В табл. 5.1. Уточнити кількість ацетону в ФХ.


10. С.165. Не приведено визначення осмолярності, але вказано про необхідність контролю за цим показником.

Відповідність дисертації вимогам.

На основі вище вказаного можна зробити висновок, що дисертаційна робота **ШАХМАЄВА АНТОНА ЄВГЕНОВИЧА «Розробка технології одержання ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону, що має кардіопротекторну дію»** є закінченою науково-дослідною роботою, в якій отримані нові науково обґрунтовані теоретичні і експериментальні результати, що в сукупності вирішують конкретну задачу в галузі технології створення нових оригінальних лікарських засобів.

Вважаю, що за актуальністю теми, новизною, теоретичною та практичною значимістю, а також обсягом досліджень дисертаційна робота **«Розробка технології одержання ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону, що має кардіопротекторну дію»** відповідає сучасним вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», які висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук. Її автор **ШАХМАЄВ АНТОН ЄВГЕНОВИЧ** заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.01 – **технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація.**

Офіційний опонент:

Завідувач науково-дослідної лабораторії парентеральних та оральних рідких лікарських засобів Національного фармацевтичного університету, доктор фармацевтичних наук, професор  Л.Г. Алмакаєва

Підпис Алмакаєвої Л.Г. засвідчую:
Заступник ректора з питань
кадрової роботи





З.Ф.Подстрелова