

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Шахмаєва Антона Євгеновича «Розробка технології одержання ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону, що має кардіопротекторну дію»**, представлену до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.02 при Національному фармацевтичному університеті на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.01 – технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація

Актуальність теми. У формуванні сучасних негативних медико-демографічних тенденцій в Україні провідну роль відіграють серцево-судинні захворювання. Саме вони істотно впливають на основні показники здоров'я: захворюваність, смертність, інвалідність, тривалість і якість життя населення. За останні 25 років в Україні спостерігається зростання показників серцево-судинних захворювань серед населення в 3 рази, а рівень смертності від них на 45 %. При цьому у структурі смертності населення від хвороб системи кровообігу перше місце займає ішемічна хвороба серця. Саме тому розширення асортименту готових лікарських засобів для лікування та профілактики серцево-судинних захворювань має першочергове значення.

При лікуванні серцево-судинних захворювань актуальним є застосування гідрофобних антиоксидантів, що нормалізують процеси перекисного окиснення ліпідів та відновлюють структуру біологічних мембран клітин. Найбільш перспективним для застосування у медичній практиці є ліпофільний антиоксидант убідекаренон, який за антиоксидантною дією перевершує усі інші природні антиоксиданти. Крім того, серед показань для застосування цієї сполуки перше місце займає профілактика та лікування серцево-судинних захворювань.

Проте однією з причин обмеженого застосування убідекаренону у медичній практиці є його низька біодоступність, що перш за все пов'язано з його гідрофобними властивостями. Саме тому у номенклатурі готових

лікарських засобів, що містять убідекаренон, переважну більшість займають тверді лікарські форми, які приймаються перорально у значних кількостях.

Останнім часом одним із пріоритетних напрямків розвитку сучасних фармацевтичних технологій є розробка і створення терапевтичних систем на основі наноконтейнерів, які містять ліпофільні сполуки, що дозволяє підвищити їх біодоступність. Для вирішення цього завдання з успіхом застосовуються наносомальні носії лікарських речовин, наприклад, ліпосоми.

Збільшити біодоступність убідекаренону можливо, створивши водорозчинну ін'єкційну форму даного препарату. Цього можна досягнути шляхом включення убідекаренону до ліпосом. Водорозчинний убідекаренон представляє безперечний інтерес для кардіології (нестабільна та стабільна стенокардія, міокардит, інфаркт міокарда). Крім того, в порівнянні з іншими лікарськими засобами водорозчинний ліпосомальний убідекаренон матиме низку переваг: ефективність та швидкість дії завдяки внутрішньовенному введенню; можливість введення хворому, не спроможному до прийому *per os*, а також точність дозування та поліпшення біодоступності. Тому створення водорозчинного убідекаренону є актуальним, своєчасним та становить науковий інтерес для сучасної медичної та фармацевтичної науки і практики.

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 отриманих результатів дисертаційних досліджень. Дисертантом уперше 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. Крім того, на основі теоретичного обґрунтування та експериментальних досліджень був визначений якісний та кількісний склад діючої та допоміжних речовин.

Запропоновано обґрунтовану технологію швидкого заморожування та ліофілізації ліпосомальної наноемульсії убідекаренону та встановлена раціональна концентрація кріопротектора лактози у складі лікарської форми, яка дозволяє зберегти ліпосоми у нанорозмірі - 140-190 нм.

Уперше експериментально обґрунтована доцільність введення у бішар ліпосоми негативно зарядженого фосфоліпіда дипальмітоїлфосфатидилгліцерину, що підвищує включення убідекаренону у наночастинки – ліпосоми, а також стабілізує ліпосомальну емульсію.

Була встановлена фармакологічна активність розробленого препарату на щурах на моделі інфаркту міокарда та ішемічної хвороби серця. Розроблено методики контролю якості лікарського засобу, встановлена його стабільність та визначені умови зберігання, що забезпечують незмінність його складу та властивостей упродовж всього терміну придатності (2 роки).

За результатами проведених досліджень отримано 2 патенти України на корисну модель № 85306 та № 91702.

Практичне значення отриманих результатів полягає у створенні та запропонуванні для практичної медицини оригінального ліпосомального препарату, до складу якого входить убідекаренон, для лікування кардіологічних захворювань.

Розроблено проект технологічного регламенту для виробництва ліпосомальної форми убідекаренону, а також проект МКЯ.

Технологію виробництва та МКЯ розробленого препарату апробовано в умовах промислового виробництва підприємств (ПАТ «Фармак», м. Київ, ТОВ «Наномедтех», м. Київ).

Фрагменти дисертаційної роботи впроваджено дисертантом у навчальні процеси кафедр біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, органічного синтезу і нанотехнологій; онкології та дитячої онкології низки вищих

закладів України, а також у виробничий процес підприємства «Фармсинтез» при розробці ліпосомальних лікарських препаратів та у науково-дослідний процес ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» при розробці та апробації методів контролю якості ліпосомальних лікарських препаратів.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність. Наукові положення, висновки і рекомендації, що викладені у дисертації, базуються на достатньому експериментальному матеріалі з використанням надійних методів статистичної обробки результатів досліджень. Усі розділи дисертації виконані на високому науковому рівні з використанням сучасних фізико-хімічних, фармакотехнологічних, фармакологічних, мікробіологічних та біологічних методів із об'єктивним аналізом отриманих результатів.

Усі наукові положення і висновки, сформульовані в дисертації, логічно витікають з отриманих результатів. Висновки викладені чітко, коректно і експериментально обґрунтованими. Вважаю, що достовірність отриманих автором результатів і висновків не викликає сумнівів. Матеріал дисертаційної роботи **Шахмаєва Антона Євгеновича** є новим з наукової точки зору і перспективним з позиції впровадження у практичну фармацію.

Повнота викладення основних результатів дисертації в опублікованих працях. 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 публікацій у матеріалах науково-практичних конференцій, отримано 2 патенти України на корисну модель: № 91702, № 85306. На мою думку, в опублікованих роботах достатньо повно відображено основний зміст дисертаційної роботи. Кількість фахових публікацій відповідає вимогам до кандидатських дисертацій.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота має традиційну структуру, логічну послідовність у викладенні матеріалу. Основний зміст викладено на 225 сторінках друкованого тексту (обсяг основного тексту 172

сторінки); 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 та 70 латиницею.

У **вступі** наведено обґрунтування вибору теми дослідження, її зв'язок з науковими програмами, планами, темами, визначена мета та завдання дослідження, перелічені об'єкти, предмет та методи дослідження, висвітлено наукову новизну, практичне значення, особистий внесок, наведено відомості про апробацію результатів роботи та публікації, а також дані щодо її обсягу і структури.

У першому розділі **«Сучасний стан виробництва ліпосомальних препаратів, що містять гідрофобні антиоксиданти та препарати убідекаренону»** наведено характеристику убідекаренону, як антиоксиданту, проаналізовано лікування убідекареном різноманітних серцево-судинних захворювань та показано, що дана сполука є ефективною для лікування серцевої недостатності, ішемічної хвороби серця (стенокардія, інфаркт міокарда, постінфарктний кардіосклероз). Проведено маркетингові дослідження фармацевтичного ринку України щодо зареєстрованих препаратів, до складу яких входить убідекаренон, та показано, що на фармацевтичному ринку в основному представлені імпорتنі препарати, причому представлені вони пероральними твердими формами (таблетки, капсули). Крім того, показано, що препарати, які містять убідекаренон, необхідно застосовувати в досить великих кількостях per os (в середньому дозування становить від 150 мг на добу та більше, що залежить від віку людини) та протягом досить тривалого часу – від 2 до 3 місяців.

Наведено та проаналізовано ліпосомальні форми препаратів, що містять гідрофобні сполуки, їх основну фармакологічну дію та форму випуску. Розглянуто технологічні аспекти одержання ліпосомальних препаратів.

Зроблено висновки про те, що застосування убідекаренону в медичній

практиці обмежено, що, насамперед, пов'язано з його гідрофобними властивостями. Обґрунтовано доцільність створення вітчизняного ліпосомального ін'єкційного препарату, який містить у своєму складі убідекаренон, що має кардіопротекторну дію.

Другий розділ **«Обґрунтування загальної концепції та методів досліджень»** містить теоретичне обґрунтування розробки складу та технології ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону. Дисертантом наведено характеристику діючих та допоміжних речовин, які використовувались під час проведення досліджень. Визначені методи досліджень для створення ін'єкційного ліпосомального препарату, а також методики ідентифікації та кількісного визначення діючих та допоміжних речовин.

Третій розділ **«Обґрунтування складу ліпосомальної форми убідекаренону»** присвячено дослідженням з розробки оптимального складу ліпосомального препарату. Наведено результати з вибору типу мембраноутворювального ліпіда для створення ліпосом, буферного розчину для технології одержання ліпосом та результати дослідження щодо включення лікарської субстанції убідекаренону до ліпосоми.

Для вивчення впливу типу фосфатидилхоліну на властивості ліпосом дисертантом було розроблено модельні ліпосоми, до складу яких вводили фосфатидилхолін яєчного жовтка, сої, соняшнику та фосфатидилхоліни, одержані синтетичним шляхом (дипальмітоїлфосфатидилхолін та диміристоїлфосфатидилхолін), а також їхні суміші у різних концентраціях. Показано, що фосфатидилхоліни, які виділені з насіння сої та соняшнику проявляють гемолітичні властивості, причому гемолітичну активність мали як зразки після гомогенізації, так й емульсії, одержані без гомогенізації з вихідних рослинних фосфатидилхолінів. Дисертант робить висновок, що можливо це пов'язано з високим вмістом у продукті лізоформ. При цьому рослинні фосфатидилхоліни мають високий індекс окисненості, що свідчить про окиснення жирних кислот фосфоліпідів. Крім того, у даних

експериментах дисертантом була визначена оптимальна концентрація фосфоліпідів, яка характеризувалася кращою швидкістю фільтрації та низькою сорбцією на фільтрі при проведенні процесу стерилізувальної фільтрації.

При вивченні включення убідекаренону до ліпосомальної емульсії з фосфатидилхолінів при встановленому співвідношенні фосфоліпід : убідекаренон (9 : 1) показано, що синтетичні фосфатидилхоліни утворюють менш стабільні ліпосомальні емульсії у порівнянні з емульсією з яєчного фосфатидилхоліну. Здобувач робить висновок, що це може бути обумовлено більш високою температурою фазового переходу синтетичних ліпідів, що у свою чергу припускає використання температури вище ніж 50 °С, що є вкрай небажаним у технологічному процесі, оскільки це призводить до нестабільності яєчного фосфатидилхоліну та до зниження включення убідекаренону. При цьому ступінь включення убідекаренону до ліпосом різного складу при встановлених режимах практично однакова. Проте, враховуючи, що робота з синтетичними формами фосфатидилхолінів потребує більш високих температур при розчиненні та гомогенізації, в роботі як мембраноутворювальний ліпід дисертант визначив яєчний фосфатидилхолін. Крім того, визначено метод включення убідекаренону до ліпосоми – метод ліпідної плівки.

Четвертий розділ **«Розробка технології одержання ліпосомальної форми емульсії убідекаренону»** присвячений розробці технології одержання ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону та вибору критичних параметрів його виробництва.

Визначено залежність включення убідекаренону від структури використовуваних фосфоліпідів та умов технології. Показано, що включення до ліпосоми негативно зарядженого фосфоліпіда - дипальмітоїлфосфатидилгліцерину дозволяє збільшити включення убідекаренону до ліпосоми на 30%. Крім того, дипальмітоїлфосфатидилгліцерин збільшує швидкість фільтрації емульсії

ліпосом крізь пори мембран з розміром 0,22 мкм. Оптимальна кількість циклів, яка дозволяє одержати ліпосоми у нанодіапазоні, становить не більш ніж 5 при тиску у гомогенізаторі $8,1 \cdot 10^7$ Па. При цьому одержані наночастинки мають розмір до 180 нм.

Проведено підбір оптимального фільтрувального матеріалу для емульсії ліпосом з включеним убідекареноном. Визначено фільтрувальний матеріал, який приводить до мінімальної сорбції убідекаренону, режим та спосіб фільтрації, що мінімально впливають на стабільність ліпосом та, які не призводять до зниження фармакологічної дії одержуваного препарату.

Дисертантом визначено тип та оптимальну концентрацію кріопротектора у розробленому препараті. Показано, що до ліофілізації різні концентрації лактози приводять до одержання близьких за розміром ліпосом. Проте після проведення процесу ліофілізації препарату збереження розмірів наночастинок у нанодіапазоні спостерігається тільки при кінцевій концентрації лактози 80 мг/мл.

На підставі проведених досліджень запропоновано обґрунтовану технологію швидкого заморожування і ліофілізації ліпосомальної наноемульсії убідекаренону. При цьому одержані ліпосоми стандартного складу, основна маса яких представлена частками з розміром 140-190 нм після ліофілізації.

Визначено вплив світла та окисників на стабільність ліпосомального убідекаренону. Для стабільного зберігання ліпосомального препарату убідекаренону (ліофілізат для ін'єкцій) рекомендовано зберігання препарату від мінус 10°C до мінус 20°C та використовувати світлозахисні флакони з темного скла, оскільки освітлення негативно впливає на стабільність ліпідів та убідекаренону. Таким чином, у результаті проведених досліджень дисертантом запропонована технологічна та апаратурна схеми одержання ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону, визначені критичні стадії технології та запропоновано якісний та кількісний склад препарату.

П'ятий розділ «Методи контролю якості розробленого препарату»

присвячений розробці специфікації на ліофілізований препарат. Специфікація на препарат розроблена згідно з вимогами ДФУ до лікарських препаратів для парентерального застосування і містить такі показники: опис, ідентифікація, час утворення емульсії, рН, сторонні домішки, втрата в масі при висушуванні, однорідність дозування, механічні включення, стерильність, аномальна токсичність, пірогенність, визначення сторонніх домішок, кількісне визначення убідекаренону та фосфоліпідів, розподіл ліпосом за розміром. Крім того, проведено фармакологічні дослідження активності ліпосомальної форми убідекаренону на щурах на моделях інфаркту міокарда та ішемічної хвороби серця та встановлено, що кардіопротекторний засіб на основі убідекаренону сприятливо впливає на продукти окиснення (дієнові кон'югати, малоновий діальдегід, ізопростан-8), які є маркерами перекисного окиснення ліпідів і які свідчать про інтенсивність перебігу вищевказаних хвороб.

Аналізуючи роботу в цілому, необхідно зазначити, що робота виконана на високому науковому рівні з теоретичним обґрунтуванням та обговоренням отриманих результатів. Висновки відповідають задачам дослідження.

Зауваження до змісту дисертації. Відмічаючи безперечну актуальність, новизну та практичну значимість дисертаційної роботи **Шахмаєва Антона Євгеновича**, слід навести деякі зауваження та побажання:

1. Автором запропоновано використовувати як аніонний фосфоліпід – дипальмітоїлфосфатидилгліцерин, введення якого до ліпосоми підвищує включення до неї діючої речовини – убідекаренону. З дисертаційної роботи незрозуміло, цю властивість має тільки дипальмітоїлфосфатидилгліцерин або й інші аніонні фосфоліпіди.

2. При виготовленні ліпосомальних препаратів можливо визначення у препараті дзета-потенціалу, який може визначати взаємодію ліпосом з компонентами крові при внутрішньовенному уведенні. Чи обговорювалося автором дане питання при розробці препарату?

3. З наведених у роботі даних незрозуміло чи можливо підвищити включення у бішар ліпосоми більшої кількості убідекаренону, а ніж 1 мг/мл.

4. Прошу пояснити чим саме керувався автор, коли запропонував створення лікарської форми убідекаренону з дозуванням 20 мг у флаконі.

5. У роботі зустрічаються невдалі вирази та друкарські помилки.

Вказані зауваження, зроблені у процесі рецензування даної дисертаційної роботи, не несуть принципового характеру та не впливають на загальну оцінку і значення отриманих результатів досліджень у представлений до захисту дисертації у цілому.

Висновок. Дисертація Шахмаєва Антона Євгеновича на тему «Розробка технології одержання ліпосомальної ін'єкційної форми убідекаренону, що має кардіопротекторну дію» є завершеною науковою працею, яка за своєю актуальністю, ступенем обґрунтованості наукових положень, висновків, новизною одержаних результатів, об'ємом виконаних досліджень, теоретичним і практичним значенням, впровадженням повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», а її автор – Шахмаєв Антон Євгенович заслуговує присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.01 – технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація.

Офіційний опонент

начальник лабораторії розробки

технологій фармацевтичних препаратів

департаменту з біотехнології ПАТ «Фармак»

доктор фармацевтичних наук

Г. І. Борщевський

Григорій Борщевський
Начальник Відділу кадрів
Дроздовська В.

