ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Хромильової Ольги Володимирівни на тему «Розробка та стандартизація фіксованих комбінованих нейрометаболітотропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансмітерними амінокислотами»

представлену до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті для захисту на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03- стандартизація та організація виробництва лікарських засобів

Актуальність теми дисертації

На сьогодні актуальним завданням сучасної медицини та фармації є розробка і впровадження в медичну практику нових вітчизняних лікарських засобів. У світі інсульт посідає друге місце серед усіх причин смерті та інвалідності. Щорічно реєструється близько 6,5 млн. летальних випадків, і за цим показником поступається лише ішемічній хворобі серця. Україна займає одне з перших місць в Європі за показниками цереброваскулярної захворюваності та смертності від інсульту: щорічно реєструють близько 100-110 тис. інсультів, 30–40% хворих на інсульт помирають упродовж перших 30 днів і до 50% — протягом року від початку захворювання; 20–40% хворих, що вижили, стають залежними від сторонньої допомоги (12,5% первинної інвалідності) і лише близько 10% повертаються до повноцінного життя. На жаль існуючі лікарські засоби не задовольняють запити клініцистів через недостатню ефективність та наявність чисельних побічних реакцій. Тому, створення нових більш ефективних та безпечних лікарських засобів для лікування цих патологій є актуальним та доцільним.

Дисертаційна робота присвячена вирішенню наукової проблеми, що полягає у розробці складу, технології, методик стандартизації та досліджені фармакологічних властивостей нових комбінованих лікарських засобів для лікування судинних захворювань головного мозку на основі похідних 1,2,4-триазолу та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету "Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин в ряду азагетероциклів та створення оригінальних лікарських засобів та фіксованих комбінацій лікарських препаратів" (номер державної реєстрації 0113U000802) та "Пошук біологічно активних речовин в ряду азагетероциклів та розробка оригінальних і комбінованих лікарських препаратів" (номер державної реєстрації 0118 U 004257).

Наукова новизна дослідження

Хромильовою О.В. вперше розроблено три нових комбінованих лікарських засобів для лікування судинних захворювань головного мозку в таблетках з фіксованим вмістом тіотриазоліну та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК.

Запропонований методологічний підхід щодо математичного планування експериментальних досліджень за вибором допоміжних речовин для таблеток-ядер з вмістом похідних 1,2,4-триазолу та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот. Дисертантом експериментально обґрунтовано оптимальну лікарську форму, склад діючих і допоміжних речовин та розроблено технології одержання таблеток «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» та запропоновано технологічну схему їх виробництва. Для нових лікарських засобів автором розроблено методики їх стандартизації, за результатами проведеної валідації методики кількісного визначення тіотриазоліну та нейротрансмітерних амінокислот в розроблених таблетках доведена її прийнятність для вирішення питань стандартизації.

Проведено фармакологічні дослідження та встановлено потенціювання нейропротективних властивостей тіотриазоліну та нейротрансмітерних амінокислот у розроблених комбінованих засобах «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк».

Наукову новизну досліджень захищено 2 патентами України на винахід.

Практичне значення одержаних результатів

Практична значимість рецензованої роботи не визиває сумнівів. Автором розроблено та стандартизовано комбіновані засоби для лікування судинних захворювань головного мозку – «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» в таблетках. Розроблено технологічні схеми одержання таблеток L-аргініну з тіотриазоліном та ГАМК з тіотриазоліном методом вологої грануляції, гліцину з тіотриазоліном – методом прямого пресування, які відпрацьовано в умовах заводу-виробника ДП «ДНЦЛЗ» та впроваджено у технологічний процес лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ»; у систему контролю якості лабораторії таблетованих лікарських форм ПрАТ «Лекхім-Харків». Для комбінованих засобів «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк» розроблено методики кількісного визначення діючих речовин в модельній суміші, таблетковій масі та таблетках методом ВЕРХ, які опрацьовано та впроваджено у систему якості ПрАТ «Лекхім-Харків».

Розроблені методики стандартизації комбінованих засобів «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» в таблетках з фіксованим вмістом тіотриазоліну та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК відповідно покладено в основу проєктів документів «Методи контролю якості на лікарський засіб». Розроблені комбіновані засоби «Аргітрил» та «Гліцитрил» в таблетках включено до перспективного плану розвитку підприємства ПрАТ «Лекхім-Харків».

Практичне значення також підтверджується актами впровадження у науково-дослідну та навчальну роботу кафедр ряду навчальних закладів України.

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Безпосередньо автором проведено інформаційно-патентний пошук, узагальнення та аналіз літературних даних щодо сучасного стану медичного

застосування нейротрасмітерних амінокислот та морфолінія тіазотату, методичних підходів до створення таблетованих лікарських засобів, а також перспектив застосування препаратів, розроблених на основі комбінацій антиоксидантів та нейротрансмітерних амінокислот з метою оптимізації лікування хвороб ЦНС.

Разом з науковим консультантом визначено мету та методологію досліджень, здійснено планування усіх експериментальних досліджень; теоретично обґрунтовано і розроблено склад і технологію одержання таблеток на основі L-аргініну, гліцину, гамма-аміномасляної кислоти та тіотриазоліну; розроблено проєкти МКЯ; опрацьовано та узагальнено результати доклінічного вивчення лікарських засобів.

Усі наукові та практичні результати, положення, висновки та рекомендації, що викладені у дисертації, отримано автором самостійно. Персональний внесок у всіх опублікованих зі співавторами працях наводиться за текстом дисертації, а також у списку публікацій, що міститься в анотації.

Співавторами наукових праць є науковий консультант та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах

Основні положення дисертаційної роботи пройшли апробацію на чисельних науково-практичних конференціях: VIII Національному з'їзді фармацевтів України "Фармація XXI століття: тенденції та перспективи" (Харків, 2016 р.); 6-ї науково-практичній конференції з міжнародною участю "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" (Тернопіль, 2016 р.); I міжнародній науково-практичній конференції "Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів" (Харків, 2017 р.); VI щорічній міжнародній

науково-практичній конференції "Актуальные вопросы медицины" (Баку, 2017 р.); XIII international scientific and practical conference "Trends of modern science-2017" (Sheffild, 2017 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (Харків, 2018 р.); 7-ій науково-практичній конференції з міжнародною участю "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" (Тернопіль, 2018 р.); XIII conference in memoriam of Prof. Valeriy Orlov "Chemistry of nitrogen containing heterocycles" (Харків, 2018 р.); III міжнародній науково-практичній конференції "Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів" (Харків, 2019 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю "Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку" (Харків, 2019 р.); II International Scientific and Practical Conference “The world of science and innovation London. United Kingdom” (London, 2020 р.); 8-ї науково-практичній конференції з міжнародною участю "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" (Тернопіль, 2020 р.); X International Scientific and Practical Conference "Eurasian scientific congress" (Barcelona, 2020 р.); VIII International Scientific and Practical Conference"Modern science: problems and innovations" (Stockholm, 2020 р.); V міжнародна науково-практична конференція "Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії" (Харків, 2020 р.).

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 44 наукові праці, а саме: 24 статті у наукових фахових виданнях (із них 11 - у закордонних виданнях, 3 цитуються наукометричною базою даних Scopus, 3 цитуються наукометричною базою даних Web of Science), 2 патенти України на винахід, 1 інформаційний лист, 17 тез доповідей. Опубліковані роботи повністю відповідають основним результатам досліджень та змісту роботи.

Структура та зміст дисертації

Дисертаційна робота Хромильової О.В. викладена на 470 сторінці друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, 6 розділів експериментальної частини, загальних висновків, списку використаних джерел і додатків. Обсяг основного тексту – 312 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 64 таблицями та 180 рисунками. Список використаних джерел містить 403 найменування, з них 175 кирилицею.

Основний зміст роботи

Представлена дисертаційна робота складається зі вступу, шести розділів, загальних висновків, списку використаних джерел і додатків.

Вступ дисертації включає дані щодо актуальності, мети та завдань роботи, методів дослідження, наукової новизни, практичної значимості, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертаційної роботи.

Мета роботи сформульована чітко і є теоретично обґрунтованою та полягає в наступному: розробка методологічного підходу до обгрунтування складу нових фіксованих комбінованих нейрометаболітотропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансмітерними амінокислотами, розробка технології і стандартизація розроблених таблеток. Завдання, які вирішуються для досягнення мети, є чіткими та конкретними.

Перший розділ «Сучасний стан медичного застосування нейротрансмітерних амінокислот та морфолінінію тіазотату і їх комбінацій з іншими лікарськими засобами (Огляд літератури)» присвячений аналізу даних наукової літератури щодо сучасного стану медичного застосування нейротрансмітерних амінокислот та тіотриазоліну і їх комбінацій з іншими

лікарськими засобами. Проведено аналіз стану сучасного фармацевтичного ринку ноотропних та анксіолітичних препаратів.

Слід відзначити, що огляд літератури свідчить про актуальність та доцільність проведення подальших досліджень щодо розробки та стандартизації комбінованих лікарських засобів на основі нейротрансмітерних амінокислот та тіотриазоліну у вигляді таблеток.

У розділі 2 «Характеристика матеріалів та методів» автором наведена характеристика діючих та допоміжних речовин і методи дослідження, які необхідні для створення раціонального складу, обґрунтованої технології та стандартизації таблеток.

В ході виконання роботи дисертантом застосовані фізичні, фізико-хімічні, фармакотехнологічні, фармакологічні, математичні методи дослідження.

У розділі 3 «Розробка оптимального складу, технології виробництва та стандартизація таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом» дисертантом наведено результати експериментальних досліджень, щодо розробки оптимального складу, технології та стандартизація нового комбінованого лікарського засобу L-аргініну з тіотриазоліном у формі таблеток, вкритих плівковою оболонкою. По-перше, були проведені квантово-хімічні розрахунки, які теоретично показали, що між діючими речовинами не виникають ковалентні зв'язки, а тільки нестійкі водневі. Крім того, проведено дериватографічні дослідження, які підтвердили, що L-аргінін та тіотриазолін є сумішшю діючих речовин, які не взаємодіють між собою. Все вищенаведене дозволило поєднати діючі речовини в одній лікарській формі у формі таблеток. Проведені дослідженні, щодо розробки складу, технології таблеток L-аргініну з тіотриазоліном методом вологої грануляції та зі створення захисної полімерної оболонки на поверхні таблеток-ядер L-аргініну з тіотриазоліном.

Автором розроблено методику одночасного визначення L-аргініну з тіотриазоліном методом рідинної хроматогрвфії. Проведені дослідження з розробки методик стандартизації отриманих таблеток. Попередньо були вивчені методи стандартизації кожної діючої речовини, модельної суміші, таблеткової маси, а далі розроблену методику застосовано для отриманих таблеток. Для визначення L-аргініну з морфолінію тіазотатом в модельній суміші запропоновано використовувати іон-парне хроматографування з використанням кислого буфера - 0.05% розчину трифтороцтової кислоти.

Розроблену методику кількісного визначення діючих речовин в таблетковій масі та таблетках методом рідинної хроматографії (РХ), апробовано та впроваджено у систему якості ПрАТ «Лекхім-Харків». Методики кількісного визначення діючих речовин валідовано. Проведені дослідження стабільності створених таблеток та визначено термін придатності - 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°С.

Розділ 4 «Розробка оптимального складу, технології та стандартизація таблеток на основі гліцину з морфолінія тіазотатом» присвячений розробці складу, технології та стандартизації нового комбінованого лікарського засобу на основі гліцину та морфолінію тіазотату. Проведені квантово-хімічні розрахунки та термогравіметричні дослідження для підтвердження можливості комбінації гліцину та морфолінію тіазотату в одній лікарській формі.

Були вивчені фізико-хімічні та технологічні властивості субстанцій гліцину, тіотриазоліну та їх суміш. Дисперсійний аналіз результатів дослідження, отриманих за допомогою функції бажаності, дозволив на основі порівняння отриманих середніх значень рівнів вивчених факторів вибрати кращі допоміжні речовини (ДР) для обраного методу прямого пресування: із зразків ДР на основі мікрокристалічної целюлози – МКЦ 302, із зразків ДР на основі цукрів – манітол 300, із зразків ДР на основі гранульованих неоргані-

чних солей – неусілін УС 2, серед зразків змащуючих речовин – кальцію стеарат.

В ході досліджень була розроблена технологічна схема одержання таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом методом прямого пресування, яку апробовано на базі ПрАТ «Лекхім-Харків». Стандартизацію діючих речовин рекомендовано проводити методом рідинної хроматографії згідно розробленої методики, яку введено до проєкту МКЯ. Проведено валідацію методики кількісного визначення за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, прецизійність, правильність, робасність. Всі показники відповідали вимогам ДФУ.

Була розроблена специфікація на отримані таблетки гліцину з тіотриазоліном. В специфікацію внесені наступні показники: опис, ідентифікація, середня маса, однорідність дозування, розпадання, супровідні домішки, розчинення кількісне визначення та мікробіологічна чистота. Проведені дослідження стабільності розроблених таблеток гліцину з тіотриазоліном. Отримані результати довели стабільність таблеток протягом 2 років при умовах зберігання в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°С

У розділі 5 « Розробка складу, технології та стандартизація таблеток ГАМК з тіотриазоліном» наведено дані досліджень, щодо розробки складу, технології та стандартизації нового лікарського засобу на основі ГАМК та морфолінію тіазотату у формі таблеток, вкритих плівковою оболонкою. Для врахування можливої хімічної взаємодії діючих речовин, були проведені квантово-хімічні розрахунки комплексів ГАМК з тіотриазоліном. Для підтвердження та усунунення ризиків фізичної взаємодії між діючими речовинами були проведені термогравіметричні дослідження та встановлено, що суміш ГАМК і тіотриазоліну є сумішшю діючих речовин які не взаємодіють між собою, що дає можливість комбінувати їх в одній лікарській формі.

Проведенні дослідження фізико-хімічних та фармако-технологічних показників субстанцій ГАМК та тіотриазоліну дозволили запропонувати можливість отримання таблеток методом вологої грануляції. При цьому обгрунтовано зроблено вибір допоміжних речовин для отримання якісних таблеток.

Вивчали вплив ДР на однорідність в масі, стійкість до роздавлювання, стиранність та час розпадання таблеток. В результаті проведених досліджень запропоновано оптимальний склад таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном.

Подальші дослідження показали нестабільність препарату при зберіганні та було рекомендовано нанесення плівкоутворючого покриття для таблеток-ядер ГАМК з морфолінію тіазотатом. Кожну серію отриманих таблеток оцінювали за зовнішнім виглядом, однорідністю в масі, стійкістю таблеток до роздавлювання, часом розпадання. В якості плівкоутворюючого покриття рекомендовані готові суміші торгової марки Опадрай. Кожну серію отриманих таблеток оцінювали за зовнішнім виглядом, однорідністю в масі, стійкістю таблеток до роздавлювання, часом розпадання.

Крім того, в ході досліджень була розроблена технологічна схема отримання таблеток гама-аміномасляної кислоти з морфолінію тіазотатом методом вологої грануляції, яку апробовано на базі ПрАТ «Лекхім-Харків». Для створених таблеток були розроблені методики їх стандартизації методом РХ. Методики кількісного визначення валідовані за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, правильність, робасність та прецизійність. На отримані таблетки ГАМК з тіотриазоліном розроблена специфікація, яку внесено до проєкту МКЯ. Для визначення терміну придатності проведені дослідження стабільності розроблених таблеток ГАМК з тіотриазоліном.

Розділ 6 «Дослідження фармакологічної активності» присвячений вивченню кардіопротективної і ендотеліопротективної дії, антиоксидантного, енерготропного і NO-модулюючого механізмів дії нового комбінованого

лікарського засобу на основі L-аргініну з тіотриазоліном, нейропротективної, протиішемічної дії нового комбінованого лікарського засобу на основі гліцину з тіотриазоліном, ноотропної, протитривожної дії нового комбінованого лікарського засобу на основі гама-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном.

В ході проведених досліджень встановлено, що комбінація L-аргініну з тіотриазоліном достовірно перевершує референс-препарат Тівортін за впливом на досліджувані показники антиоксидантної, енерготропної і NO-модулюючої, кардіопротективної і протиішемічної дії; комбінація гліцину з тіотриазоліном за ступенем впливу на показники нейропротективної, протиішемічної, енерготропної дії перевершувала рефренс-препарати пірацетам і гліцин; комбінований засіб ГАМК з тіотриазоліном за силою ноотропної, антіамнестичної, анксіолітичної дії перевищує пірацетам.

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

Дослідження виконані на сучасному науковому рівні. Достовірність експериментальних даних підтверджена валідаційними дослідженнями та статистичним аналізом результатів хімічного експерименту, що є сучасним елементом розробки і стандартизації лікарських засобів. Наукові висновки і практичні рекомендації базуються на експериментальному матеріалі та повністю відображають зміст роботи. Висновки теоретично обґрунтовані й експериментально підтверджені. Достовірність отриманих автором результатів не викликає сумніву. Матеріал дисертаційної роботи **Хромильової Ольги Володимірівни** є новим з наукової точки зору і перспективним з позиції впровадження в практичну фармацію.

Поряд з тим до роботи є декілька зауважень та рекомендацій:

1. На мій погляд в розділах 3, 5 слід було вказати технологічні властивості діючих речовин, та більш детальніше пояснити чому саме був

запропонований метод вологої грануляції для отримання комбінованих таблеток.

2. Для покращення сприйняття результатів дослідження щодо технології нанесення плівкового покриття на таблетки «Аргітрил» та «Тіогамк» вважаю за доцільне було навести інформацію як впливають на якість технологічні показники при нанесенні покриття (тиск та швидкість подачі суспензії, температура шару таблеток, кількість розчину), бо це важливі показники при нанесенні плівкового покриття.

3. В дисертаційній роботі зустрічаються невдалі вирази.

4. В списку використаних джерел дисертантом наведено багато літературних джерел, яким понад 10 років.

Крім того, в ході ознайомлення з роботою Хромильової О. В. виникли деякі запитання:

1. Чому при створенні таблеток «Аргітрил» для зв'язуючих речовин була вибрана концетрація саме 3 %? (стор.117).

2. Чи перевіряли Ви кількісний вміст діючих речовин в таблетках-ядрах, перед тим як зробити висновок про необхідність нанесення плівкового покриття. Протягом якого часу Ви спостерігали за таблетками без оболонки та здійснювали їх контроль. На підставі яких документів Ви це робили?

3. Скажіть будь ласка чи визначали Ви термін придатності розроблених Вами лікарських засобів методом прискореного зберігання?

4. При розробці технології нанесення плівкового покриття на таблетки-ядра «Тіогамк» чому саме Вами обрана концентрація 3 % плівкоутворювача?

Однак вказані зауваження не зменшують наукової значимості дисертаційної роботи.

Отже, дисертаційна робота **Хромильової Ольги Володимирівни «Розробка та стандартизація фіксованих комбінованих нейрометаболітотропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансмітерними амінокислотами»**, є завершеною науковою працею і за обсягом виконаних досліджень, своєю актуальністю, ступенем обґрунтованості наукових положень, новизною одержаних результатів, теоретичним та практичним значенням, висновками повністю відповідає вимогам п.10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 зі змінами, внесеними згідно з постановами № 656 від 19.08.2015 р. та № 1159 від 30.12.2015 р., що висуваються до докторських дисертацій, а її автор, **Хромильова Ольга Володимирівна**, заслуговує присудження наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів.

Офіційний опонент:
Доктор фармацевтичних наук, професор,
професор кафедри фармацевтичних дисциплін
Ужгородського національного університету,
МОЗ України Л.Г. Алмакаєва

Підпис проф. Алмакаєвої Л.Г.
ЗАСВІДЧУЮ
Вчений секретар ДВНЗ «УжНУ»
О.О. Мельник
«26» березня 2021 р.