

## Відгук

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Ляпунової Анни Миколаївни** на тему **«Фармацевтична розробка і стандартизація м'яких лікарських засобів мометазону фууроату для лікування дерматозів»** на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю **15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів**

**Актуальність теми.** Алергодерматози є однією з найактуальніших проблем сучасної медицини, оскільки зростання їх поширеності нерозривно пов'язано із сучасними умовами існування людини: стрімкою урбанізацією, все більшим застосуванням у побуті та на виробництві синтетичних матеріалів і хімічно агресивних речовин, вживанням у складі харчових продуктів штучних консервантів, барвників, ароматизаторів тощо, а також безконтрольним і необґрунтованим прийомом лікарських препаратів. Все це веде до полівалентної сенсibilізації населення.

Важливим компонентом лікування алергодерматозів є зовнішня терапія, «золотим стандартом» якої є топічні глюкокортикостероїди (ТГКС). Ці препарати застосовують для лікування дерматологічних захворювань вже понад 50 років; до тепер їм не знайдено альтернативи за швидкістю та виразністю протизапального ефекту. Слід зазначити, що деякі форми алергодерматозів характеризуються хронічним персистуючим перебігом, тому часто хворим доводиться вдаватися до використання ТГКС впродовж багатьох років. Враховуючи негативні наслідки зовнішньої терапії кортикостероїдами, що включають атрофію або гіпотрофію шкіри, телеангіектазії, стероїдні акне та ін., необхідною складовою у комплексі заходів із забезпечення населення доступними, ефективними та безпечними ліками є розробка та впровадження у медичну практику вітчизняних мазей і кремів з активними нефторованими ТГКС. Вони практично не поступаються

сильним фторованим ТГКС за ефективністю протизапальної дії, але при цьому мають значно менший ризик прояву побічних ефектів. Отже, дослідження з фармацевтичної розробки та стандартизації м'яких лікарських засобів з активним нефторованим ТГКС мометазону фууроатом, яким присвячена дисертаційна робота Ляпунової Анни Миколаївни, є важливою, своєчасною та актуальною науковою працею.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт (НДР) ДП «ДНЦЛЗ» за темою: «Біофармацевтичні дослідження в області розробки експериментально-теоретичних основ створення нових лікарських препаратів в оптимальних лікарських формах і контроль їхньої якості» (№ державної реєстрації 0198U00864), договором між ДП «ДНЦЛЗ» і ВАТ «Татхімфармпрепарати» № 90-2011 «Сравнительное исследование специфической фармакологической активности и токсикологических свойств препарата Мометазон крем» та договором між ДП «ДНЦЛЗ» і ВАТ «Фармак» № 39-2006 «Розробка нормативно-технічної документації на м'які лікарські засоби – аналоги мазі та крему Елоком» (№ державної реєстрації 0109U006239), а також відповідно до плану НДР ДНУ «НТК «ІМК» НАНУ» за темою: «Супрамолекулярна архітектура та властивості функціональних органічних матеріалів» (№ державної реєстрації 0116U001211). Тема дисертації затверджена на засіданні Проблемної комісії «Фармація» МОЗ і НАМН України (протокол № 20 від 23.02.2013).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Дисертантом вперше продемонстрована краща розчинність (у 2,3 рази) безводної форми мометазону фууроату у воді та розбавлених розчинах гліцерину і пропіленгліколю (ПГ) порівняно з його моногідратною формою, що обумовлено відмінностями в кристалічних структурах цих форм.

Було розширено наукові дані про структуру змішаних розчинників вода – гексиленгліколь (ГГ). При цьому показано, що розчинення ГГ у воді супроводжується зменшенням об'єму; екстремум на ізотермах надлишкових значень молярного об'єму відповідає утворенню асоціатів  $1ГГ \cdot 2Н_2О$ .

Підвищення вмісту ГГ призводить до руйнування структури води, про що свідчать зміни значень термодинамічних характеристик активації в'язкої течії.

Розширено наукові поняття про вплив складу емульгаторів типу м/в і в/м на структуру їх змішаних агрегатів і залежність від неї реологічних параметрів емульсій м/в. Показано, що використання суміші емульгаторів із суттєво різними значеннями гідрофільно-ліпофільного балансу (ГЛБ): макроголу 40 стеарату (М40С), гліцерину моностеарату 40-55 типу II (ГМС) і цетостеарилового спирту (ЦСС), – у їх змішаних агрегатах призводить до латерального розподілу фаз з утворенням доменів, що відрізняються за щільністю упаковки молекул і гідрофільністю.

Удосконалено наукові уявлення щодо механізмів стабілізації емульсій в/м, дисперсна фаза яких містить ГГ у концентрації 80 мас.%. Продемонстровано, що молекули емульгаторів утворюють зворотні міцели в вазеліні, а не адсорбуються на поверхні розподілу фаз. Фізична стабілізація таких емульсій пов'язана з утворенням у гідрофобному середовищі структурно-механічного бар'єру, руйнування якого призводить до коалесценції часток дисперсної фази і втрати мазями з мометазону фууроатом протизапального ефекту.

Розширено наукові дані про фармацевтичні фактори, що впливають на дисперсний стан і розподіл стероїдних спінових зондів та мометазону фууроату в емульсіях. При цьому динаміка протизапального ефекту мометазону фууроату в емульсії м/в і емульсіях в/м є однаковою в умовах кожної моделі запального процесу. При декстрановому запаленні наявна тенденція до більшого протизапального ефекту у разі препарату з мометазону фууроатом на основі емульсії м/в; при аеросильному запаленні протизапальні ефекти препаратів на основі емульсій м/в та в/м майже однакові.

На підставі результатів проведених досліджень науково обґрунтовано склад оригінального препарату з мометазону фууроатом на емульсійній основі 1-ого роду для лікування дерматозів (патент 2 548 764 РФ).

**Практичне значення одержаних результатів.** Проведені дослідження дозволили обґрунтувати доцільність впровадження в виробництво і медичну практику препарату Мометазон крем 0,1 % на основі емульсії м/в. Розроблено реєстраційну документацію на вказаний препарат.

Розроблено реєстраційні документи на препарати Мометазон крем 0,1 % і Мометазон мазь 0,1 % (на основі емульсій в/м), які зареєстровано МОЗ України (№ UA/7002/01/01 і № UA/7002/02/01). Вказані препарати впроваджено у виробництво на ПАТ «Фармак» (акти впровадженень від 14.04.2008) і потім перереєстровано під назвами Молескін® крем 0,1 % і Молескін® мазь 0,1 %. На ринку України обсяги продажів зазначених препаратів (у перерахунку на кг) за 2014–2015 рр. перевищили обсяги продажів інноваційних препаратів Елоком® крем 0,1 % і Елоком® мазь 0,1 %, відповідно.

Розроблено Настанову СТ-Н МОЗУ 42-4.8:2016 «Лікарські засоби. Формалізоване загальне оцінювання ризиків з метою встановлення відповідної належної виробничої практики для допоміжних речовин, використовуваних в лікарських препаратах для людини», що затверджена наказом МОЗ України від 29.07.2016 № 798.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, що сформульовані у дисертаційній роботі та їх достовірність.** Наукові положення та висновки, що сформульовані у дисертаційній роботі є експериментально обґрунтованими, мають об'єктивний характер та логічно витікають із отриманих результатів.

Дисертаційна робота виконана на високому методичному та науковому рівні, базується на достатньому фактичному матеріалі і за результатами досліджень повністю відповідає поставленій меті дослідження.

Достовірність результатів підтверджена достатньою кількістю статистично оброблених дослідів, отримані дані не викликають сумнівів. Дисертаційна робота має логічну структуру та добре оформлена.

**Апробація результатів дослідження.** Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на VI Національному з'їзді

фармацевтів України (Харків, 2005), XV Симпозиуме по межмолекулярному взаимодействию и конформациям молекул (Петрозаводск, 2010), VII Національному з'їзді фармацевтів України (Харків, 2010), Международной научной конференции «Химическая термодинамика и кинетика», (Донецк, 2011), XI Международной конференции «Проблемы сольватации и комплексообразования в растворах» (Иваново, 2011), II Міжнародній науково-практичній Інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2015), VIII Національному з'їзді фармацевтів України (Харків, 2016).

Дисертаційна робота викладена на 330 сторінках друкованого тексту і складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку літературних джерел і додатків. Робота ілюстрована 34 таблицями і 127 рисунками. Список джерел літератури містить 299 найменувань, з яких 64 латиницею та 235 кирилицею.

У **вступі** дисертаційної роботи наведено обґрунтування теми дослідження, визначено мету і завдання, указані об'єкт, предмет та використані методи дослідження; сформульовано наукову новизну і практичне значення отриманих результатів.

У **першому розділі «Лікарські засоби з глюкокортикостероїдами (ГКС) для місцевого лікування алергічних захворювань (Огляд літератури)»** на підставі проведеного огляду літератури розглянуто сучасні аспекти лікування алергодерматозів, а також застосування з цією метою препаратів топічних глюкокортикостероїдів, зокрема мометазону фууроату. Показано, що мометазону фууроат є оптимальним глюкокортикостероїдним засобом для зовнішнього застосування, оскільки виявляє швидку і сильну протизапальну дію та мінімально абсорбується до системного кровообігу при нашкірному нанесенні. При цьому субстанцію мометазону фууроату отримують у двох формах: безводної форми, яка входить до складу м'яких лікарських засобів для нашкірного застосування, та моногідрату, що застосовують в назальних спреях. За період з 2004 по 2008 рр. на фармацевтичному ринку України була наявна виражена тенденція до збільшення продажів інноваційних препаратів з мометазону фууроатом

Елоком<sup>®</sup> крем 0,1 % і Елоком<sup>®</sup> мазь 0,1 %, що свідчить про важливість цих засобів для дерматології. Вищезазначене стало підґрунтям для досліджень з фармацевтичної розробки і стандартизації вітчизняних м'яких лікарських засобів з мометазону фууроатом.

У другому розділі «Об'єкти, матеріали та методи досліджень» визначено загальну методологію досліджень, наведено характеристику мометазону фууроату та допоміжних речовин, що були використані при фармацевтичній розробці м'яких лікарських засобів на емульсійних основах 1 і 2 роду. Представлено сучасні методи та методики проведення досліджень: фізичні, фізико-хімічні, аналітичні, технологічні, біофармацевтичні, фармакологічні та мікробіологічні. Наведено розроблені методики кількісного визначення мометазону фууроату методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій і видимій областях, ідентифікації та кількісного визначення мометазону фууроату, феноксіетанолу і продуктів розкладання мометазону фууроату методом рідинної хроматографії, кількісного визначення гексиленгліколю та пропіленгліколю методом газової хроматографії, а також результати валідації цих методик, проведеної за вимогами Державної Фармакопеї України. Усі наведені об'єкти, матеріали та методи досліджень використані при проведенні науково-дослідних робіт.

У третьому розділі «Дослідження фізико-хімічних властивостей діючих і допоміжних речовин та емульсій» представлено результати фізичних і фізико-хімічних досліджень субстанцій мометазону фууроату безводного та мометазону фууроату моногідрату, допоміжних речовин і виготовлених з їх використанням емульсій.

Проведено порівняльні дослідження фізико-хімічних параметрів субстанцій мометазону фууроату безводного та моногідрату трьох різних фірм-виробників. За допомогою методу рентгенівської дифракції порошку визначено кристалічну структуру зразків; методом лазерної дифракції встановлено розподіл за розмірами частинок субстанцій. Досліджено розчинність двох форм мометазону фууроату та встановлено, що безводна форма за певний час має у 2,3 рази кращу розчинність у воді та розбавлених

розчинах гліцерину і пропіленгліколю, ніж моногідрат. Таким чином, визначено, що у складі суспензійних препаратів в м'яких лікарських засобах для наскірнього застосування раціонально використовувати мометазону фуроат безводний, який краще проникатиме у шкіру, а в назальних спреях – мометазону фуроату моногідрат, біодоступність якого має бути нижчою.

Досліджено розчинність мометазону фуроату у воді, ГГ і ПГ. Встановлено, що у воді мометазону фуроат практично не розчинний, а у гліколях його розчинність значно збільшується; при цьому ГГ може бути розчинником мометазону фуроату, а ПГ – середовищем для його суспендування.

Досліджено розчинність мометазону фуроату у змішаних розчинниках вода – ГГ та вода – ПГ в температурному діапазоні 25–65 °С. Встановлено, що залежність розчинності мометазону фуроату від складу змішаного розчинника має нелінійний складний характер, причому визначальною для розчинення мометазону фуроату є структура змішаного розчинника.

Досліджено фізико-хімічні властивості змішаних розчинників вода – ГГ. Визначено, що густина змішаних розчинників зменшується з підвищенням вмісту ГГ і температури, а розчинення ГГ у воді відбувається зі зменшенням об'єму; значення надлишкового молярного об'єму є негативними, а його екстремум відповідає утворенню асоціатів  $1\text{ГГ}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Досліджено кінематичну в'язкість змішаних розчинників вода – ГГ, яка зростає з підвищенням вмісту ГГ і зменшується з підвищенням температури від 20 °С до 70 °С. Дисертантом проаналізовано одержані дані та зроблено висновок про те, що в системах вода – ГГ наявна значна зміна характеру міжмолекулярних взаємодій залежно від їх складу і температури. За результатами дослідження термодинаміки в'язкої течії змішаних розчинників вода – ГГ виділено області складів, де превалюють структури води (вміст ГГ до ~20 мас.%), змішаного розчинника з домінуванням структури води (вміст ГГ від ~20 мас.% до ~60 мас.%), змішаного розчинника з домінуванням структури ГГ (вміст ГГ від ~60 мас.% до ~90 мас.%), неводного розчинника ГГ (вміст ГГ понад 90 мас.%).

Показано, що ГГ виявляє поверхнево-активні властивості. При вмісті ГГ понад 40 мас.% поверхневий і міжфазний натяг в присутності поверхнево-активних речовин (ПАР) визначається вмістом ГГ, що свідчить про десорбцію ПАР з поверхні розподілу фаз. На основі цього зроблено висновок про можливість негативного впливу ГГ у високих концентраціях на стабільність емульсій і потребу в іншому механізмі їх стабілізації.

Встановлено, що при використанні ізопропілміристату (ІПМ) в емульсіях м/в поєднання комплексних емульгаторів типу м/в і в/м не сприяє зниженню міжфазного натягу між водною та масляною фазами до граничного значення, при якому відбувається самоемульгування. Тому механізм стабілізації таких емульсій має бути пов'язаний з утворенням на границі розподілу фаз і в об'ємі емульсій структурно-механічного бар'єру.

Досліджено властивості емульсій м/в, де масляною фазою є суміш ІПМ, октилдодеканола (ОДД) і гексилдецилстеарату (ГДС). Показано, що уявна в'язкість емульсій м/в проходить через максимум залежно від масового співвідношення між макрогол стеаратами (МС), що є емульгаторами м/в, і сумішшю гліцерину моностеарату 40-55 типу II (ГМС) і цетостеарилового спирту (ЦСС), що є емульгаторами в/м. При збільшенні гідрофільно-ліпофільного балансу МС максимум уявної в'язкості зсувається у бік більшого вмісту емульгаторів в/м, а уявна в'язкість на максимумі підвищується. Як емульгатор м/в раціонально використовувати М40С. За результатами досліджень обґрунтовано склад емульгаторів. Емульгатором м/в обрано макро голу 40 стеарат (М40С), а емульгаторами в/м – ГМС і ЦСС. Знайдено оптимальні масові співвідношення між М40С і сумішшю емульгаторів в/м, а також між ГМС і ЦСС (10:1), при яких уявна в'язкість емульсій є максимальною, а розмір часток масляної фази – мінімальним.

Із застосуванням методу спінових зондів визначено, що варіювання співвідношення між М40С і сумішшю ГМС і ЦСС викликає зміну структури їх агрегатів у полярній частині та на рівні 1-5 атомів вуглецю алкільних ланцюгів. При використанні М40С разом з сумішшю ГМС і ЦСС в агрегатах емульгаторів м/в і в/м відбувається латеральний розподіл фаз з утворенням



різних за щільністю упаковки і гідрофільністю доменів, що є передумовою утворення коагуляційних структур – фактора стабілізації емульсій м/в.

Методом спінових зондів встановлено, що в ліпофільному середовищі емульсій в/м, де дисперсною фазою є 80 % водний розчин ГГ, емульгатор в/м утворює зворотні міцели і не абсорбується на міжфазній поверхні. При цьому зроблено висновок, що стабілізація емульсій має бути пов'язана з реологічними параметрами дисперсійного середовища, які визначаються маркою вазеліну білого, вмістом воску білого та складом емульгаторів.

**У четвертому розділі «Біофармацевтичні дослідження емульсійних основ та МЛЗ, що містять МФ»** наведено та узагальнено результати дослідів *in vitro* та *in vivo*. В дослідах *in vitro* досліджено осмотичні властивості неводних розчинників – ГГ і ПГ та емульсій м/в і в/м, що містять ці гідрофільні розчинники. Встановлено, що ПГ абсорбує воду головним чином протягом 2–3 год, в той час як ГГ пролонговано абсорбує воду і поступається за швидкістю вивільнення ПГ. Емульсія м/в уповільнює вивільнення ПГ в порівнянні з розчином ПГ, а емульсія в/м сприяє майже усуненню осмотичних властивостей ГГ, оскільки ГГ знаходиться у внутрішній дисперсній фазі.

Досліджено розподіл двох стероїдних спінових зондів в емульсіях. Згідно одержаних результатів, в емульсіях розподіл стероїдів може бути різним залежно від їх гідрофільно-ліпофільних властивостей. До того ж стероїди можуть мати різний дисперсний стан (розчин або суспензія). Дослідження розчинності мометазону фууроату методом рідинної хроматографії показало, що в емульсіях м/в він знаходиться переважно у вигляді дисперсної фази суспензії, а в емульсіях в/м розчиняється в дисперсній фазі, що містить 80 мас.% ГГ.

Досліджено вплив різної локалізації і різного дисперсного стану мометазону фууроату в емульсіях на їх протизапальний ефект на моделях аеросильного і декстранового запалення стопи щурів. Встановлено, що динаміка протизапального ефекту мометазону фууроату на емульсійних основах м/в і в/м відрізняється залежно від типу запального набряку, але є

подібною в умовах однакового набряку. Одержані дані свідчать про значущість для динаміки протизапального ефекту такого фармацевтичного фактору, як тип і концентрація кортикостероїду.

Встановлено, що на моделі гострого декстранового запалення мометазону фуроат на основі емульсії м/в проявляє більш високий протизапальний ефект. В умовах тривалішого аеросильного запалення протизапальний ефект на емульсійних основах різного типу виявився однакоvim. Виходячи з цього, раціональним є застосування крему на основі емульсії м/в у гострій фазі запального процесу, а крему і мазі на основі емульсії в/м – при хронічних дерматозах.

У п'ятому розділі «Фармацевтична розробка, стандартизація і дослідження МЛЗ з МФ» наведено результати досліджень фізичних і фізико-хімічних властивостей препаратів, а також узагальнення їх біологічних властивостей; обрано та обґрунтовано первинний пакувальний матеріал – туби алюмінієві; наведено результати розробки виробничих процесів і узагальнені мікробіологічні характеристики. Дисертантом розроблено склад препарату Мометазон крем 0,1 % (на основі емульсії м/в) та досліджено його реологічні властивості. Методом рідинної хроматографії доведено, що розроблений виробничий процес не сприяє утворенню продуктів розкладання МФ та забезпечує однорідний розподіл в препараті МФ і антимікробного консерванту – феноксіетанолу. За результатами досліджень розроблено два препарати Мометазон (Молескін®) мазь 0,1 % і Мометазон (Молескін®) крем 0,1 %, що є аналогами оригінальних препаратів Елоком® мазь 0,1 % та Елоком® крем 0,1 %. Доведено, що мікроструктура кожного з розроблених препаратів аналогічна мікроструктурі відповідного оригінального препарату, а розроблені виробничі процеси не сприяють утворенню продуктів розкладання мометазону фуроату та забезпечують його однорідний розподіл в м'яких лікарських засобах. Для розроблених препаратів в формі кремів і мазі обрано первинний пакувальний матеріал – туби алюмінієві з внутрішнім захисним покриттям, мембраною і латексним кільцем в хвостовій частині, що забезпечують герметичність упаковки. На

препарати Мометазон крем 0,1 % і Мометазон мазь 0,1 % розроблено реєстраційні документи; препарати зареєстровано МОЗ України (№ UA/7002/01/01 і № UA/7002/02/01), впроваджено в серійне промислове виробництво і медичну практику, а потім перереєстровано під назвами Молескін<sup>®</sup> крем 0,1 % і Молескін<sup>®</sup> мазь 0,1 %.

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 9 наукових статей, з яких 6 статей – у рекомендованих МОН України фахових наукових виданнях і 1 – у фаховому науковому іноземному виданні, 7 матеріалів і тез доповідей, 1 глава у колективній монографії, 1 патент РФ, а також розроблено 1 Настанову МОЗ України.

Високо оцінюючи експериментальний рівень дисертаційної роботи, слід проте, відмітити деякі зауваження та запитання:

1. В додатку Г наведено довідку про впровадження результатів науково-дослідних робіт, підписану виконавчим директором ПАТ «Фармак», де поряд з препаратами Молескін<sup>®</sup> крем 0,1 % і Молескін<sup>®</sup> мазь 0,1 % зазначено препарат Молескін<sup>®</sup> С мазь, що містить мометазону фуроат і саліцилову кислоту. Чому дані з фармацевтичної розробки та стандартизації цього препарату не представлено у розділі 5?

2. До складу препарату Мометазон крем 0,1 % на основі гідрофільної емульсії м/в включено антимікробний консервант і наведено результати дослідження ефективності його антимікробної дії. Доцільно було б навести пояснення у роботі, чому у склад препаратів на основі емульсій 2 роду антимікробні консерванти не включали і такі дослідження не проводили?

3. Чи можна розглядати препарат Елоком<sup>®</sup> крем 0,1 % як референтний препарат відносно препарату Мометазон крем 0,1 % на основі емульсії 1 роду і порівнювати ефективність їх протизапальної дії?

4. В розділі 5 показано тенденції щодо обсягів продажів розроблених і інноваційних препаратів в період з 2008 по 2017 роки. Напевно, слід було б надати також інформацію про обсяги їх продажів у 2018 році?

Втім, викладені зауваження не є принциповими та не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

**Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.** Результати дисертаційного дослідження Ляпунової А. М., що включають науково-методичні підходи, методики дослідження, підходи до інтерпретації експериментальних даних та ін., можуть бути використані науково-дослідними лабораторіями НДІ та фармацевтичних підприємств при розробці оригінальних і генеричних м'яких лікарських засобів, а також у науково-педагогічному процесі медичних навчальних закладів всіх рівнів акредитації при викладанні дисциплін технологія ліків, фармацевтична хімія та фармакологія.

**Висновок.** Дисертаційна робота Ляпунової Анни Миколаївни на тему «Фармацевтична розробка і стандартизація м'яких лікарських засобів мометазону фууроату для лікування дерматозів» є самостійною завершеною кваліфікаційною науковою працею, яка за своєю актуальністю, ступенем обґрунтованості наукових положень, висновків, новизною одержаних результатів, об'ємом виконаних досліджень, теоретичним і практичним значенням та впровадженням повністю відповідає вимогам п. 11 положення «Порядку присудження наукових ступенів», що висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор – Ляпунова Анна Миколаївна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів.

Офіційний опонент,

зав. кафедри заводської технології ліків

Національного фармацевтичного університету,

д. фарм. н., проф.

О. А. Рубан

Підпис проф. Рубан О. А. засвідчую:

Начальник відділу кадрів НФаУ

З. Ф. Подстрелова

