

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Стадніченко Олександра Вікторовича

на тему «**Наукове обґрунтування та розробка ліпосомальних протипухлиних лікарських засобів на основі іринотекану і оксаліплатину**», яка представлена до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.02 при Національному фармацевтичному університеті на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.01 – технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація

Обґрунтування вибору теми дослідження. Одним із актуальних напрямків фармацевтичної науки є створення інноваційних і надперспективних ліпосомальних лікарських препаратів (ЛП), зокрема, нанопрепаратів, які відрізняються від багатьох інших високою біологічною доступністю, терапевтичною ефективністю і низькою токсичністю.

Україна одна з небагатьох країн світу, що створює і виробляє такі препарати. Незважаючи на успіхи у розробці сучасних протипухлиних засобів, ефективність медикаментозної терапії онкологічних захворювань на сьогодні є незадовільною. Причиною низької ефективності препаратів цитостатиків є неконтрольований розподіл діючих речовин в організмі та, як наслідок, їх низька концентрація у цільовому органі терапії.

Висока гостра та кардіотоксичність хіміотерапевтичних протипухлиних засобів обумовлюють актуальність створення вітчизняних ЛП групи цитостатиків, які за рахунок інкапсуляції активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) у наночастки або мікроносії, зменшують загальнотоксичний ефект, дозволяють збільшувати терапевтичну дозу, покращуючи стан хворого при прийнятному ризику для нього.

Враховуючи викладене вище, створення ліофілізованих ЛП на основі

інкорпорованих у ліпосоми цитостатиків: іринотекану гідрохлориду й оксаліплатину, які мають специфічну протипухлинну дію при лікуванні онкологічних захворювань, є дуже важливим і актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт НФаУ «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини» (№ 0114U000945), тема дисертаційної роботи затверджено і уточнено на засіданнях вченої ради Національного фармацевтичного університету МОЗ України (протокол № 4 від 21.12.2015 р. та протокол № 4 від 26.12.2016 р.).

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше запропоновано науково-методичний підхід до створення нових ЛП у ліофілізованій формі, оптимізації їх складу і методик контролю якості.

Здобувачем розроблено експериментально-практичну основу для розробок у галузі створення ліпосомальних форм препаратів протипухлинної дії, зокрема, методичні рекомендації «Методологія розробки технології ліпосомальних цитостатиків», «Методологія трансферу та масштабування технології промислового виробництва ліпосомальних цитостатиків» та монографію «Липосомальные противоопухолевые препараты».

Уперше на підставі фізико-хімічних і фармако-технологічних досліджень теоретично й практично обґрунтовано та експериментально підтверджено склад і розроблено ефективні, з потенціалом масштабування, технології наноліпосом іринотекану гідрохлориду (ЛЛФІ) (новизна захищена Євразійським патентом № 023079 В1 «Способ получения липосомальной формы иринотекана (варианты)» від 29.04.2016 р.) та оксаліплатину (ЛЛФО) (новизна захищена патентом України на корисну модель «Спосіб отримання ліпосомального лікарського засобу з оксаліплатином» від 11.08.2016 р.).

Технологію виготовлення ліпосом із іринотекану гідрохлоридом розроблено

методом «хімічного градієнту pH». Для виготовлення ліпосом із оксаліплатином уперше науково обґрунтовано технологію «пасивного захоплення» у поєднанні з методом «іонної сорбції», а саме: систему та методологію отримання максимальної інкапсуляції, склад і концентрацію ліпідів, тип і концентрацію кріопротектора, режим гомогенізації.

У застосуванні до розроблених технологій досліджено хімічну стабільність іринотекану гідрохлориду в буферних розчинах з pH 1,9-5,0 та оксаліплатину у водному розчині.

Уперше досліджено критичні параметри виробництва моноламілярних ліпосом із запропонованим складом допоміжних компонентів методами екструзії, ультрафільтрації, ліофільної сушки. Проведено випробування стабільності розроблених ліпосомальних форм іринотекану гідрохлориду та оксаліплатину. Доведено їх стабільність впродовж 12 місяців з моменту виготовлення.

Уперше розроблено методики контролю якості (МКЯ) на ліпосомальні форми іринотекану гідрохлориду та оксаліплатину. Валідовано ВЕРХ методики контролю ступеню інкапсуляції активної речовини у препаратах, кількісного визначення АФІ у готових лікарських формах.

Практичне значення одержаних результатів. Уперше на підставі проведених досліджень розроблено та запропоновано для практичної фармації і медицини два нових препарати – ЛЛФІ та ЛЛФО для лікування онкологічних захворювань.

Розроблено нормативно-технологічну документацію, затверджену та апробовано технологією (акт апробації від 16.05.2012 р.) та виготовлено зразки ЛП у лабораторних і дослідно-промислових умовах ТОВ «Технологія ліків» ГК «ХімРар» (м. Химки). Проведено доклінічні дослідження препаратів на базі ЗАТ «Санкт-Петербургский Институт Фармации». Погоджено проведення клінічних випробувань ЛЛФІ та ЛЛФО (МЗ РФ, Рада з Етики нак. № 76 від 21.01.2014 р.).

Для препарату «Іринотекан ліпосомальний, ліофілізат для приготування

емульсії для інфузій» (внутрішній номер ЕК-45939) і для препарату «Оксаліплатин ліпосомальний, ліофілізат для приготування емульсії для інфузій» (внутрішній номер ЕК-45940) погоджено проведення відкритого дослідження по визначеню безпеки, переносимості, токсичності та фармакокінетичних параметрів (№ нак. МА/0713-4 та МА/1113-8 відповідно).

Для препарату «Іринотекан ліпосомальний, ліофілізат для приготування емульсії для інфузій» успішно проведено I фазу клінічних випробувань у пацієнтів із пухлинами шлунково-кишкового тракту (дозвіл на клінічні дослідження № 481 від 22.08.2014 р.).

Проведено масштабування і трансфер технології запропонованих ЛП в умовах ПАТ «Наномедтех» (м. Київ). Розроблено та затверджено технологічні регламенти і МКЯ на виробництво ЛЛФІ і ЛЛФО (акт апробації від 28.09.2018 р.). Препарати включено до перспективного плану виробництва ПАТ «Наномедтех» на 2018-2020 роки (лист вх. № 1248 від 24.10.2018 р.).

Результати дисертаційної роботи впроваджені у навчальний процес ряду вищих фармацевтичних і медичних закладів України.

Повнота викладення матеріалів в опублікованих роботах і авторефераті. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 42 наукових праці, з яких: 1 Євразійський патент, 1 патент України на корисну модель, 24 статті у наукових фахових виданнях (з котрих 9 опубліковано у закордонних виданнях, 3 цитуються наукометричною базою даних Scopus), 2 методичних рекомендацій, 1 монографія, 11 тез доповідей, 2 статті в інших виданнях.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій та їх достовірність. Дисертація Стадніченко О. В. виконана на високому науковому рівні, має логічну структуру. Аналіз наукової літератури підтверджив актуальність і доцільність проведення досліджень за напрямками, що представлені у дисертаційної роботі.

Наукові положення, висновки та рекомендації, що сформульовані у

дисертаційній роботі базуються на достатньому експериментальному матеріалі і логічно витікають із отриманих результатів. У науково-методичних підходах при виконанні дисертації передбачено проведення комплексних досліджень, які дисертант виконав за допомогою сучасних фармако-технологічних, фізико-хімічних методів із об'єктивним аналізом отриманих результатів. Достовірність результатів підтверджена достатньою кількістю статистично оброблених дослідів, отримані дані не викликають сумнівів.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені й обговорені на міжнародних науково-практичних конференціях (Великобританія, 2017 р.; Чехія (Прага), 2018 р.; Болгарія (Софія), 2018 р.; Польща (Перемишль), 2018 р.), VIII з'їзді фармацевтів (Харків, 2016 р.) та ін.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота представлена на 366 сторінках машинописного тексту і складається зі вступу, огляду літератури (розділ 1), експериментальних досліджень (розділи 2-7), загальних висновків, списку використаних джерел, додатків. Обсяг основного тексту становить 282 сторінки. Робота проілюстрована 55 рисунками та 42 таблицями. Список використаної літератури налічує 352 найменувань.

У розділі 1 «Сучасні принципи фармакотерапії онкологічних захворювань. Роль хіміотерапевтичних препаратів в терапії – реалії та перспективи створення» на основі проведеного аналізу даних наукової літератури дисертантом обґрунтовано потребу та актуальність створення препаратів: «Іринотекан ліпосомальний, ліофілізат для приготування емульсії для інфузій» та «Оксаліплатин ліпосомальний, ліофілізат для приготування емульсії для інфузій».

У розділі 2 «Обґрунтування загальної методології досліджень. Об'єкти і методи» викладено теоретичне обґрунтування методології досліджень щодо створення ліофілізованих ЛП, а також наведено об'єкти та методи досліджень.

У розділі 3 «Наукове обґрунтування складу і технології лікарського препарату «Іринотекан ліпосомальний, ліофілізат для приготування емульсії для

інфузій»» автором наведено результати теоретичних розробок та експериментальних досліджень з обґрунтування складу і технології створення ЛЛФІ. Розроблено МКЯ для готового лікарського засобу та технологічний регламент на його виробництво.

Варто відзначити логічну структуру планування експерименту щодо обґрунтування концентрації іринотекану гідрохлориду у ЛП. Саме доведення стабільності іринотекану гідрохлориду у різних буферних системах при варіації pH дозволило автору обрати технологію отримання ліпосом методом «градієнту pH», як оптимальну.

Обґрунтовано представлено дослідження із відпрацювання технології ліофільної сушки та контролю якості розробленої ЛЛФІ. Матеріали цього розділу мають завершення і відображення у технологічний та аналітичній документації.

У розділі 4 «Наукове обґрунтування складу і технології лікарського препарату «Оксаліплатин ліпосомальний, ліофілізат для приготування емульсії для інфузій» наведено результати та висновки теоретичних і експериментальних робіт з обґрунтування складу, розробки технології ЛЛФО, МКЯ та технологічного регламенту на його виробництво.

Наукові дослідження цього розділу заслуговують уваги, насамперед, із технологічної точки зору. Дисертантом був апробований ряд технологій для отримання ліпосомальної форми оксаліплатину. Проблема полягала в тому, що оксаліплатин (комплексна сполука платини) хімічно несумісний із солями, тому ліпосомальна форма не повинна містити сольових буферних компонентів. Вирішити цю проблему дисертанту вдалося шляхом дослідження фізико-хімічних процесів, заснованих на сорбції молекул оксаліплатину на ліпосомальній мембрані. Слід зазначити, що для отримання ліпосом із максимальною інкапсуляцією оксаліплатину, автором уперше було науково обґрунтовано та розроблено технологію «пасивного захоплення» у поєднанні із методом «іонної сорбції».

В цілому, можна відмітити, що увесь комплекс досліджень розділу 4 представлено ґрунтовно, результати не викликають сумнівів.

У розділі 5 «Масштабування виробництва та технологічні аспекти виготовлення ліпосомальних препаратів іринотекану гідрохлориду і оксаліплатину на одній технологічній лінії» розглянуто аспекти масштабування виробництва препаратів і методи видалення залишків попередніх засобів при виготовленні препаратів на одній дільниці. Розроблено критерії прийнятності для валідації очищення.

Заслуговує уваги досвід автора із масштабування процесів виробництва ЛП. Досить коректно визначено критичні одиниці обладнання та стадії, які мають бути досліджені: стадія екструзії і ультрафільтрації для методу хімічного градієнта.

Дисертантом доведено, що у процесі виробництва при переході між серіями препаратів ЛЛФІ і ЛЛФО для очистки обладнання слід використовувати розчин лугу, оскільки він остаточно руйнує ці субстанції.

У розділі 6 «Дослідження критичних параметрів технології виробництва ліпосомальних препаратів іринотекану гідрохлориду та оксаліплатину» проведено оцінку внутрішнього об'єму ліпосом, досліджено кінетику інкапсуляції оксаліплатину у ЛЛФІ, індекси окисленості ліпосом, вплив матеріалу фільтроелементів на характеристики технологічного процесу. Матеріал розділу представлено на достатньому науковому рівні.

При дослідженні індексу окисленості ліпосом виникли труднощі, а саме: було виявлено неможливість прямого виміру на зразках готових препаратів. Це пов'язано із заважаючою дією АФІ іринотекану гідрохлориду та оксаліплатину. Для вирішення цієї проблеми дисертантом було досліджено індекси окисленості на модельних зразках препаратів без додавання АФІ, але з повним моделюванням технологічного процесу. Було доведено, що чинники технологічного процесу не спричиняють окислення ліпідів, як складової структури препаратів.

У розділі 7 «Вивчення фармакологічних властивостей препаратів

«Іринотекан ліпосомальний, ліофілізат для приготування емульсії для інфузій» та «Оксаліплатин ліпосомальний, ліофілізат для приготування емульсії для інфузій»» наведено узагальнені дані вивчення фармакологічних параметрів ЛЛФІ та ЛЛФО в умовах доклінічного експерименту.

За результатами комплексу фармакологічних досліджень доведено, що ЛП у порівнянні із звичайними неліпосомальними формами іринотекану гідрохлориду та оксаліплатину мають переваги. Отримано дозвіл на їх клінічні випробування та успішно проведено 1 фазу для препарату іринотекану гідрохлориду.

Рекомендації щодо використання одержаних результатів. Результати експериментальних досліджень дисертаційної роботи можуть бути використані аспірантами, здобувачами та магістрантами при розробці технології ліпосомальних лікарських засобів.

Зміст автореферату та основні положення дисертації є ідентичними. На основі аналізу результатів роботи слід відзначити її наукову та практичну значимість. Новизна, достовірність наукових теоретичних і практичних результатів не викликають сумнівів.

При загальній позитивній оцінці актуальності, наукової новизни та практичного значення дисертаційної роботи Стадніченко О. В., необхідно відмітити за змістом декілька зауважень і побажань:

- доцільно було б пояснити, у чому проявляється перевага флаконів Schott-VADIN20R, які були використані в технології;
- на мій погляд, доречно було б навести таке уточнення: із чим пов'язана необхідність миття флаконів після процесу ліофільної сушки, як це вказано у запропонованій технологічній схемі;
- можна було б навести пояснення, чи була використана комерційно доступна хроматографічна колонка для визначення ступеня інкапсуляції, чи колонка була приготовлена безпосередньо у ході експерименту;
- не зовсім зрозуміло, із чим пов'язаний мінімальний час колоїдної

стабільності 120 хв.;

- доцільно було б навести дані, як визначалася кінцева точка гідратації і момент переходу на стадію гомогенізації при отриманні первинної емульсії при гідратації ліпідної плівки;
- деякі твердження треба було б поуточнювати, наприклад, «середній розмір ліпосом» – це який мається на увазі?;
- у роботі зустрічаються стилістичні, орфографічні помилки та невдалі вирази.

Наведені зауваження не є принциповими і суттєвими, не впливають на загальну позитивну оцінку, теоретичне та практичне значення дисертаційної роботи Стадніченко О. В.

ВИСНОВОК

Все вищевикладене дозволяє вважати, що дисертаційна робота *Стадніченко Олександра Вікторовича* на тему «Наукове обґрунтування та розробка ліпосомальних протипухлинних лікарських засобів на основі іринотекану і оксаліплатину» за актуальністю, рівнем впровадження отриманих результатів, їх новизною та практичною значимістю відповідає вимогам, що висуваються до докторських дисертацій, а її автор, Стадніченко Олександр Вікторович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.01 – технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри технології ліків
Запорізького державного медичного
університету, доктор фармацев-
тичних наук, професор



B.B.Гладишин

Гладишин В.В.