

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Стадніченко Олександра Вікторовича** на тему «*Наукове обґрунтування та розробка ліпосомальних протипухлинних 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. Незважаючи на певний успіх сучасної фармацевтичної індустрії у розробці протипухлинних лікарських засобів, лікування онкологічних захворювань залишається актуальною проблемою медицини. Враховуючи, що хіміотерапевтичні препарати, зазвичай, являють собою високотоксичні речовини, існують певні обмеження у їх застосуванні, оскільки побічна дія при збільшенні дози цих ліків може привести до ушкоджень серцевої системи та погіршення стану організму в цілому. Тому, важливою є розробка технології нових ефективних мікроносіїв, які можна використовувати для адресної доставки лікарських препаратів.

Ліпосомальні форми хіміотерапевтичних ліків є одним із шляхів вирішення цієї проблеми. На сьогодні ефективним засобом терапії пухлин шлунково-кишкового тракту є препарати іринотекану гідрохлориду й оксаліплатину у формі розчинів. Нажаль, в Україні не існує повного циклу їх виробництва у ліпосомальних формах. У зв'язку з цим, актуальним питанням сучасної фармацевтичної технології є створення інноваційних ліпосомальних препаратів іринотекану гідрохлориду й оксаліплатину.

На підставі зазначеного вище вважаю, що дисертаційна робота Стадніченко О. В. присвячена актуальній проблемі охорони здоров'я – створенню протипухлинних ліпосомальних лікарських препаратів на основі

іринотекану гідрохлориду й оксаліплатину.

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

Дисертаційна робота виконана згідно плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини» (№ 0114U000945). Тему 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. Опрацьовано і запропоновано методологію створення нових ліпосомальних лікарських засобів, яка полягає у плануванні експерименту, розробці й оптимізації складу, визначені методів отримання ліпосом, методик контролю якості та технології виготовлення ліпосомальних протипухлинних ліків на основі іринотекану й оксаліплатину.

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» і монографію «Липосомальные противоопухолевые препараты».

Уперше на підставі фізико-хімічних досліджень теоретично обґрунтовано й експериментально підтверджено склад і розроблено технологію виготовлення ліпосом із іринотекану гідрохлоридом методом «хімічного градієнту pH». Для виготовлення ліпосом із оксаліплатином уперше науково обґрунтовано технологію «пасивного захоплення» у поєднанні із 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 із 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 ліпосомальних форм іринотекану гідрохлориду та оксаліплатину. Доведено їх стабільність впродовж 12 місяців із 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.

Новизна досліджень захищена Євразійським патентом № 023079 В1 «Способ получения липосомальной формы иринотекана (варианты)» від 29.04.2016 р. та патентом України на корисну модель «Спосіб отримання ліпосомального лікарського засобу з оксаліплатином» від 11.08.2016 р.

Практичне значення одержаних результатів. Уперше на підставі проведених досліджень розроблено і запропоновано для практичної фармації та медицини два нових препарати – «Іринотекан ліпосомальний, ліофілізат для приготування емульсії для інфузій» (ЛЛФІ) та «Оксаліплатин ліпосомальний, ліофілізат для приготування емульсії для інфузій» (ЛЛФО) для лікування онкологічних захворювань.

Розроблено нормативно-технологічну документацію, апробовано технологію (акт апробації від 16.05.2012 р.) і виготовлено зразки ліпосомальних препаратів у лабораторних і дослідно-промислових умовах ТОВ «Технологія ліків» ГК «ХімPar» (м. Хімки). 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 визначенню 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 І фазу клінічних випробувань у пацієнтів із пухлинами шлунково-кишкового тракту (дозвіл на клінічні дослідження № 481 від 22.08.2014 р.).

Проведено масштабування і трансфер технологій запропонованих препаратів в умовах ПАТ «Наномедтех» (м. Київ). Розроблено і затверджено технологічні регламенти та 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 (10 актів впровадження).

Повнота викладення матеріалів в опублікованих роботах і авторефераті, а також їх апробація. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 42 наукові праці, з яких: 1 Євразійський патент, 1 патент України на корисну модель, 24 статей 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.

Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на 11-ти міжнародних науково-практичних конференціях.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій та їх достовірність. Наукові положення та висновки, що сформульовані у дисертаційній роботі є експериментально обґрунтованими,

мають об'єктивний характер, логічно витікають із отриманих результатів.

Дисертація виконана на відповідному теоретичному та науковому рівні, базується на достатньому фактичному матеріалі й за результатами експериментів повністю підтверджує поставлену мету та завдання досліджень.

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

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота Стадніченко О. В. 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 – 282 сторінки. Робота ілюстрована 55 рисунками і 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» проаналізовано і структуровано дані сучасної світової літератури щодо класифікації препаратів протипухлинної дії. Коротко розглянуті механізми дії цих сполук, їх місце у терапії пухлинних захворювань. Проаналізовано лікарські форми препаратів цієї групи, наявні на фармацевтичному ринку України. Показано, що головний недолік звичайних форм протипухлинних препаратів полягає у низькій селективності та високій токсичності, що перешкоджає повному розкриттю терапевтичного потенціалу при лікуванні, а також знижує якість життя пацієнтів.

На підставі аналізу даних наукової літератури обґрунтовано потребу та актуальність створення вітчизняних ліофілізованих ліпосомальних препаратів на основі іринотекану гідрохлориду та оксаліплатину.

У *розділі 2* «Обґрунтування загальної методології досліджень. Об'єкти і методи» викладено загальну методологію досліджень, наведено об'єкти та

методи досліджень.

У розділі 3 «Наукове обґрунтування складу і технології лікарського препарату «Іринотекан ліпосомальний, ліофілізат для приготування емульсії для інфузій» наведено результати теоретичних розробок і експериментальних досліджень із обґрунтування складу та технології створення ЛЛФІ. Розроблено МКЯ для готового лікарського засобу і технологічний регламент на його виробництво.

На достатній кількості експериментів дисертантом проведено обґрунтування концентрації іринотекану гідрохлориду у ліпосомальному препараті, досліджено стабільність іринотекану гідрохлориду у різних буферних системах при варіації pH та проведено порівняння технологій. Як оптимальну автором обрано технологію із «градієнтом pH».

Для стабільності готового продукту було додатково відпрацьовано технологію ліофільної сушки. Доведено, що оптимальна концентрація трегалози дигідрату в якості кріопротектора становить 8 %.

З метою проведення контролю якості розробленої ЛЛФІ були визначені фізико-хімічні та фармако-технологічні показники, розроблено проект МКЯ, вивчено та доведено стабільність препарату впродовж 12 місяців.

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 досліджень із обґрунтування складу, розробки технології ЛЛФО, МКЯ та технологічного регламенту на його виробництво.

Комплексна сполука платини, оксаліплатин, хімічно несумісний із солями. У зв'язку із чим ліпосомальна форма препарату не повинна містити сольових буферних компонентів. За допомогою метода ВЕРХ було визначено, що оксаліплатин зберігає стабільність у водному розчині впродовж щонайменше 24 годин – у період спостереження.

Дисертантом було запропоновано технологію для отримання ліпосомальної форми оксаліплатину, засновану на сорбції молекул оксаліплатину на ліпосомальній мембрані.

Визначено дзета-потенціал отриманих ліпосом, який склав «-58,25 mV». Оптимальний вміст кріопротектора трегалози дигідрату склав 8 %.

Автором відпрацьовано режим ліофільної сушки. Загальний час процесу склав 2041 хв. або 34 год., що також є прийнятним із точки зору промислової технології.

Заключним етапом роботи цього розділу стала розробка технологічного регламенту та МКЯ на запропонований препарат. Дослідження стабільності ЛЛФО впродовж 12 місяців показало його відповідність критеріям МКЯ протягом всього терміну зберігання.

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

Показано, що при переході між серіями препаратів для очистки обладнання доцільно використовувати розчин лугу, оскільки він остаточно руйнує АФІ як у випадку ЛЛФІ, так і у випадку ЛЛФО.

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.

Слід зазначити, що дослідження цього розділу виконано на достатньому науковому й експериментальному рівні.

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.

Показано перевагу запропонованих ліпосомальних препаратів у порівняні із звичайними неліпосомальними формами іринотекану гідрохлориду та оксаліплатину.

Рекомендації щодо використання одержаних результатів. Результати дисертаційної роботи можуть бути використані аспірантами, здобувачами та магістрантами при розробці складу і технології ліпосомальних ліків.

Представлений автореферат та основні положення дисертації є повністю ідентичними. На основі переліку й 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 Олександра Вікторовича необхідно відмітити за змістом декілька зауважень і побажань:

- режим ліофільної сушки, на мій погляд, потрібно було б більш деталізувати для промислових умов;
- асортимент матеріалів для фільтрації також можна було б розширити для вибору найбільш оптимального;
- бажано було б розглянути і коротко прокоментувати склад існуючого препарату іринотекану гідрохлориду у формі розчину;
- бажано було б більш детально пояснити як проводиться введення ЛЛФІ і ЛЛФО у концентрації 2 мг/мл, чи проводять розведення до більш низьких терапевтических концентрацій;

- також бажано було б більш детально пояснити наступні питання: які частки недопустимі при технології – більше 220 нм чи більше 1000 нм?; чи можна збільшити різницю pH у методі «хімічного градієнту pH»?;
 - у роботі є орфографічні та стилістичні помилки (вказані за текстом дисертації).

Проте, наведені зауваження не мають принципового характеру і не впливають на якість проведених досліджень, теоретичне та практичне значення дисертаційної роботи.

Висновок. У цілому дисертаційна робота Стадніченко Олександра Вікторовича на тему «Наукове обґрунтування та розробка ліпосомальних протипухлинних лікарських засобів на основі іринотекану і оксаліплатину» є завершеною науковою працею, яка має наукове та суттєве практичне значення для фармації і медицини. Дисертація за своєю актуальністю, науковою новизною, обсягом досліджень, науковим рівнем їх виконання, практичним значенням та кількістю публікацій у фахових виданнях відповідає вимогам щодо 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

доктор фармацевтических наук, професор,
зав. кафедрою фармацевтичної технології
і біофармації Національної медичної академії
післядипломної освіти імені П. Л. Шупика

Л. Л. Давтян

