

ВІДГУК

офіційного опонента – завідувача кафедри фармацевтичної хімії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, доктора фармацевтичних наук, професора Логойди Лілії Святославівни на дисертаційну роботу Ханіної Наталії Вадимівни на тему «Науково-експериментальні підходи до визначення біодоступності важкорозчинних речовин на прикладі кверцетину», подану у спеціалізовану вчену раду ДФ 64.605.078 Національного фармацевтичного університету, що утворена для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

Актуальність теми. Фармацевтична розробка лікарських засобів є досить довготривалим та дорогавартісним процесом, що вимагає проведення численних експериментальних досліджень та залучення широкого кола спеціалістів. Надзвичайно складною є фармацевтична розробка важкорозчинних речовин. Як правило, такі дослідження завжди проводяться з вивченням біоеквівалентності *in vivo* та неможливістю подальшої реєстрації таких лікарських засобів за процедурою біоєквівалентності. Тому спроби будь-яких досліджень з вивчення біодоступності важкорозчинних речовин є безцінними та заслуговують великої уваги.

Виходячи з вищенаведеного, представлена дисертаційна робота Ханіної Н.В. є, безумовно, актуальною, оскільки дозволяє вирішити завдання, що стосується визначення біодоступності важкорозчинних речовин на прикладі кверцетину для цілей фармацевтичної розробки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана згідно з планами науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Розробка та валідація методів контролю якості лікарських засобів аптечного та промислового виробництва» (номер державної реєстрації 0114U000949).

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі запропоновано оригінальні підходи до проведення тесту «Розчинення» для важкорозчинних у водних середовищах біологічно активних речовин. Авторкою розроблено методику визначення межі розчинності кверцетину з використанням ВЕРХ-МС у водному середовищі із нейтральним рН. Вивчено кінетику розчинення кверцетину у водному середовищі, розраховано кількісне значення межі розчинності методом взяття першої похідної для обраної математичної залежності.

Авторкою запропоновано оригінальний альтернативний метод кількісного визначення межі розчинності важкорозчинних речовин, на прикладі кверцетину, що базувався на вимірюванні концентрації загального органічного карбону в кислих розчинах з різним значенням рН та подальшою апроксимацією отриманої залежності значення рН рівного 7,0.

Запропоновано методику кількісного визначення кверцетину в середовищах для проведення тесту «Розчинення» в діапазоні заданих концентрацій. Описано профілі розчинення кверцетину у 3-х різних водних середовищах розчинення з рН 1,2, рН 4,5 та рН 6,8, для препарату «Квертин» таблетки жувальні по 40 мг згідно до вимог БСК. Авторкою здійснено кореляційний аналіз даних *in vitro/ in vivo* для препарату «Квертин» за процедурою IVIVC.

Наукова новизна проведених досліджень підтверджена патентом на корисну модель (патент України № 152115).

Практичне значення одержаних результатів. Запропонований авторкою підхід для проведення тесту «Розчинення» важкорозчинних у воді речовин може застосовуватися для фармацевтичної розробки твердих лікарських форм, а також для всіх завдань, що формулює Настанова з проведення біоквівалентності.

Метод встановлення межі розчинності для субстанцій, обмежено розчинних у воді речовин апробовано в умовах промислового підприємства та внесено до плану наукових розробок ФК «Здоров'я» на 2023-2024 рр. Аналітичну методику передано до департаменту фармацевтичної розробки ФК «Здоров'я» (акт впровадження від 17.08.2023).

Спосіб математичного розрахунку межі розчинності кверцетину за допомогою апроксимації даних математичною функцією поліному 2-го та 3-го порядку буде введено до національного тексту Державної Фармакопеї України (ДФУ) 2.7, Том 2, 5.3.N.3 «Забезпечення якості», та 5.3.N.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту» (акт впровадження від 15.11.2023).

Результати досліджень впроваджено в науково-педагогічний процес профільних кафедр закладів вищої освіти України, що підтверджено актами впровадження.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій дисертації, їх достовірність. Експериментальні дослідження виконані на високому науковому рівні. Це забезпечено використанням сучасних методів аналізу, великою кількістю повторних експериментальних досліджень, підтвердженням достовірності та коректності результатів відповідними методами математичної статистики. Наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані в дисертаційній роботі, є достатньо обґрунтованими і достовірними.

Повнота викладення дисертації в опублікованих працях. За матеріалами дисертації опубліковано 11 наукових праць, з них 3 статті (2 статті у фахових наукових виданнях, що індексуються наукометричною базою *Scopus*, 1 стаття у фаховому виданні категорії Б), 7 публікацій в матеріалах вітчизняних і міжнародних конгресів та конференцій, 1 патент України на корисну модель.

Оцінка структури та змісту дисертації. Дисертація оформлена згідно з Вимогами до оформлення дисертації, затвердженими наказом Міністерства освіти та науки № 40 від 12.01.2017 р. Робота викладена на 200 сторінках,

складається з анотації, вступу, шести розділів, висновків, списку використаних джерел, що містить 132 найменування (4 кирилицею та 128 латиницею), додатків. Робота ілюстрована 78 таблицями, 40 рисунками.

У **першому розділі** представлено сучасний стан і проблеми дослідження біоеквівалентності *in vitro*, оцінку біодоступності та біоактивності рослинних активних компонентів, фактори, що потенційно впливають на біодоступність природних речовин, а також описано характеристику кверцетину та його місце серед флавоноїдів.

У **другому розділі** описано методологію дослідження, представлено формування методології експерименту для визначення біодоступності кверцетину, надано уніфіковану термінологію для проведення аналізу та стандартизації речовин рослинного походження.

Третій розділ присвячено експериментальному визначенню кількісного значення межі розчинності кверцетину. Авторкою вивчено вплив розміру часток кверцетину на кінетику розчинення. За результатами проведених вимірювань встановлено, що розмір більшості часток знаходиться в межах 60-90 мкм. Базуючись на розмірі часток обґрунтовано вибір часу розчинення кверцетину для проведення наступних експериментів. Визначено межі розчинності кверцетину методами високоефективної рідинної хроматографії з мас-спектрометричною детекцією та загального органічного вуглецю. Авторкою розроблено ВЕРХ-МС методику встановлення кількісного значення межі розчинності кверцетину у водних середовищах рН 7. Встановлено, що концентрація, близька до рівноважної досягається близько до 30 хв, а перехід кількості, що відповідає вимогам БСК (80 %) досягається через 20 хв. За результатами розрахунків встановлено межу розчинності кверцетину в водних середовищах (3,1 мкг/мл). Авторкою розроблено альтернативну методику визначення точного значення межі розчинності кверцетину у водному середовищі при кислих значеннях рН (від 3,0 до 5,0) із застосуванням методу загального органічного вуглецю. З використанням ступеневої функції та розв'язанням системи рівнянь встановлено значення межі розчинності кверцетину 0,7 мкг/мл.

Четвертий розділ присвячено дослідженню вивільнення кверцетину в процесі фармацевтичної розробки. Авторкою запропоновано хроматографічні умови, розроблено методику визначення кверцетину в умовах проведення тесту «Розчинення» для таблеток «Квертин», проведено валідацію методики. Застосовуючи розроблену методику, вивчено профілі вивільнення кверцетину у трьох різних водних середовищах розчинення рН 1,2, рН 4,5 та рН 6,8, для препарату «Квертин» таблетки жувальні по 40 мг відповідно до вимог БСК. Проаналізовано фармакокінетичні криві, отримані в процесі фармацевтичної розробки препарату «Квертин».

З використанням методології IVIVC, авторкою проведено кореляційні дослідження даних, одержаних в ході фармацевтичної розробки в експериментах *in vitro/in vivo* для препарату «Квертин». Наявність *in vivo/in vitro* кореляції дає змогу зменшити витрати на фармацевтичну розробку.

П'ятий розділ присвячено вивченню подібності між різними складами препаратів на прикладі вивчення вивільнення кверцетину з лікарського засобу синупрет за процедурою біокейвер. Авторкою описано використання

запропонованої методології вивчення кінетики вивільнення кверцетину для доведення подібності оригінальних препаратів з різними складами - «Синупрет-екстракт» та «Синупрет-форте».

Авторкою отримано профілі розчинення препаратів «Синупрет екстракт» та «Синупрет-форте» в середовищах рН 1,2, рН 4,5 та рН 6,8. Порівняння профілів розчинення та розрахунок фактору подібності показали, що при рН 1,2 профілі розчинення лікарських засобів «Синупрет» та «Синупрет-форте» є подібними ($f_2 = 64,73 > 50$), а при більших значеннях рН – 4,5 та 6,8 – не є подібними ($f_2 = 40,56$ та $21,24$).

Одержані графічні залежності дозволяють зробити висновок про відповідність отриманих результатів вимогам БСК до результатів біокейвера, відносне стандартне відхилення першої точки не перевищує 20 % і наступних - не перевищує 10 %. Вміст кверцетину становить 85 % та досягається для всіх вивчених середовищ за 30 хв.

Шостий розділ присвячено вивченню біоеквівалентності препаратів «Детралекс» та «Препарату Д» згідно з вимогами настанови з біокейверу та використання нового підходу до вивчення вивільнення кверцетину.

Для вивчення еквівалентності досліджуваних препаратів отримано профілі розчинення для «Препарату Д» та «Детралексу» в умовах, описаних в Настанові з проведення біокейверу. Порівняння профілів та розрахунок фактору подібності f_2 показали, що профілі розчинності препаратів є подібними при рН 4,5 ($f_2 = 54,8$), та неподібними при рН 1,2 та 6,8 ($f_2 = 40, 59$ та $26,71$).

Одержані авторкою графічні залежності дозволяють зробити висновок про відповідність отриманих результатів вимогам БСК до результатів біокейвера, відносне стандартне відхилення першої точки не перевищує 20 % і наступних не перевищує 10 %. Представлені авторкою дослідженням підтверджують, що запропонований оригінальний підхід може бути застосований для вивчення біоеквівалентності генеричного та референтного препаратів.

Висновки добре сформульовані і відповідають поставленим завданням і змісту дисертаційної роботи.

Під час рецензування дисертації та публікацій здобувачки порушень академічної доброчесності (фабрикації, фальсифікації) виявлено не було.

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації. Дисертаційна робота написана сучасною науковою мовою, логічно викладена та добре структурована. Загальна оцінка роботи безумовно є позитивною. Проте поряд з позитивними характеристиками дисертації варто відмітити деякі зауваження:

1. Вважаю за доцільне перенести розділи 2.1.1, 2.1.2, 2.1.3, 2.1.4 в розділ 1.
2. Опис методик потрібно наводити в розділі 2. Хотілося б побачити методології розробки ВЕРХ методик.
3. При вивченні лінійності аналітичних методик не представлено критерії прийнятності (в додатках також, як і по тексту дисертації).
4. Вважаю, що вступ та висновки є завеликими.
5. В роботі зустрічаються окремі друкарські помилки, кальки з іноземних термінів.

Запитання:

1. Чому Ви обрали метод ВЕРХ – МС для вирішення поставлених завдань? Чому не метод ВЕРХ-ДМД?
2. Обґрунтуйте вибір хроматографічних колонок для розробки описаних Вами методик.

Наведені зауваження і запитання носять характер наукової дискусії і жодним чином не впливають на високу оцінку дисертаційної роботи.

Рекомендації щодо використання результатів дослідження.

Запропоновані підходи до визначення біодоступності важкорозчинних речовин на прикладі кверцетину можуть застосовуватися для цілей фармацевтичної розробки, вивчення подібності та біоеквівалентності лікарських засобів.

Висновок. За результатами аналізу дисертаційної роботи Ханіної Наталії Вадимівни на тему «Науково-експериментальні підходи до визначення біодоступності важкорозчинних речовин на прикладі кверцетину», наукових публікацій, в яких висвітлені основні її положення, можна зробити висновок, що за обсягом проведених досліджень, актуальністю, науковою новизною, практичною значимістю, ступенем обґрунтованості наукових положень та висновків вона відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44, а її авторка, Ханіна Наталія Вадимівна, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» галузі знань 22 «Охорона здоров'я».

Офіційний опонент:

завідувач кафедри фармацевтичної хімії
Тернопільського національного медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
доктор фармацевтичних наук, професор

Лілія ЛОГОЙДА



Логойда Л.С.
завіряю
директора з кадрових питань
Тернопільського національного
медичного університету