

ВІДГУК

офіційного опонента, доцента кафедри біотехнології, молекулярної біології та водних біоресурсів Державного біотехнологічного університету, доктора філософії Пилипенко Дар'ї Михайлівни на дисертаційну роботу **Круглова Євгена Михайловича** на тему «**Розробка технології та стандартизація ліпосомальної форми очних крапель репаративної дії на основі пептидного комплексу**», представлену до разової спеціалізованої вченої ради PhD 8359 у Національному фармацевтичному університеті для розгляду та проведення офіційного захисту на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

Обґрунтування теми дослідження. Забезпечення ефективної та доступної офтальмологічної допомоги є важливою складовою функціонування національних систем охорони здоров'я та удосконалення первинної медико-санітарної допомоги. Згідно зі звітом ВООЗ у світі щонайменше 2,2 млрд. людей мають вади зору або сліпоту, з яких майже мільярд людей мають порушення зору, яким можна було б запобігти за умови своєчасного та ефективного лікування. Незважаючи на наявні досягнення в галузі діагностики та терапії, рівень ускладнень залишається високим, особливо серед осіб працездатного віку. Найбільш складні випадки пов'язані з хімічними та термічними опіками ока, що часто супроводжуються глибоким пошкодженням тканин і порушенням процесів загоєння.

Існуючі лікарські засоби часто не демонструють достатньої ефективності в стимулюванні репаративних процесів рогівки, що визначає необхідність розробки нових лікарських форм з багатофакторною дією. У цьому контексті розробка інноваційних топічних препаратів з високим репаративним та протизапальним потенціалом є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки.

У межах дослідження розглянуто використання ліпосомальної системи

доставки, що є одним із найбільш перспективних напрямів застосування нанотехнологій у фармації. Інкапсуляція біологічно-активних пептидів у ліпосоми дозволяє створити офтальмологічний засіб із покращеною стабільністю, керованим вивільненням, пролонгованою дією та підвищеною біодоступністю активних інгредієнтів. Особливу цінність такий підхід має з огляду на бар'єрні властивості рогівки та слізної плівки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану інноваційного розвитку АТ «Фармак» 2015-2030 рр. та науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету, зокрема наукової тематики кафедри аптечної технології ліків за темою «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини» (шифр держреєстрації 0114U000945, зареєстрований у 2014 р. та перереєстрований у 2024 р.).

Наукова новизна отриманих результатів. Дисертантом уперше запропоновано й досліджено ліпосомальну форму очних крапель на основі депротейнізованого шару свинячої шкіри та соєвого фосфатидилхоліну. Запропоновано підхід до формування складу із застосуванням концепції «якість через проєктування» (QbD). Проведено комплекс досліджень, що включав оптимізацію складу, технологічного процесу, оцінку якості та стабільності, а також доклінічне вивчення безпеки й специфічної фармакологічної активності. Розроблено основні методики кількісного визначення діючих речовин очних крапель та супутніх домішок і проведена їх валідація, розроблено проєкт МКЯ. Визначено умови зберігання і терміни придатності розробленого ЛЗ, які забезпечують стабільність упродовж зберігання і використання. Наукова новизна досліджень підтверджені патентом України на корисну модель № 152253 від 11.01.2023 р.

Практичне значення отриманих результатів. Результати роботи стали основою для впровадження у виробництво офтальмологічного препарату у формі крапель, який продемонстрував високу специфічну репаративну та

протизапальну активність. Підготовлено серії препарату для доклінічних випробувань, підтверджено його безпечність, ефективність і стабільність.

У результаті проведених досліджень щодо безпечності, ефективності та стабільності було обґрунтовано доцільність впровадження в медичну практику нового способу отримання лікарського засобу зі специфічною репаративною дією. Цей препарат може бути застосований для терапії механічних ушкоджень рогівки та кон'юнктиви з метою прискорення їх загоєння в післяопераційний період, а також для лікування хімічних, термічних і променевих опіків рогівки, її виразкових уражень і дистрофічних змін різного походження. Запропонований лікарський засіб демонструє потенціал до ефективного використання при широкому спектрі патологій рогівки.

Отримані результати впроваджено в освітній процес і науково-дослідну діяльність кафедр фармацевтичного профілю ряду закладів вищої освіти.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Робота виконана на високому науковому рівні. Методи та обсяг наукових досліджень відповідають поставленим завданням та сучасним вимогам. Наукові положення і висновки, сформульовані у дисертаційній роботі є експериментально обґрунтованими, мають об'єктивний характер і логічно витікають з отриманих результатів. Дисертаційна робота добре оформлена та має цілком логічну структуру.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах, а також їх апробації. На основі матеріалів дисертації було опубліковано 13 наукових праць, серед яких 4 статті у фахових наукових виданнях (включаючи 1 статтю в журналі, що індексується наукометричною базою даних Scopus) та 8 тез доповідей. Результати роботи були апробовані на 8 науково-практичних конференціях. Публікації повністю відображають результати дисертаційного дослідження.

Аналіз дисертаційної роботи.

Робота складається зі вступу, огляду літератури, опису методології, об'єктів і методів дослідження, чотирьох експериментальних розділів, висновків

та додатків. Усі розділи логічно структуровані. Представлено 59 таблиць і 21 рисунок, що візуалізують результати досліджень. Огляд літератури відображає актуальність теми та окреслює наукове підґрунтя вибору пептидної сировини для отримання офтальмологічного препарату репаративної дії та ліпосом як системи доставки.

У першому розділі представлено результати проведеного аналізу та систематизації літературних джерел щодо етіопатогенезу та фармакотерапії офтальмологічних захворювань. Встановлено, що використання пептидних комплексів у терапії порушень біохімічних і регенеративних процесів демонструє високі результати та підкреслює перспективність створення препаратів із протизапальною та репаративною дією. На основі аналізу літературних джерел дисертант висвітлив роль ліпосом як ефективної системи доставки лікарських засобів при патологіях переднього й заднього сегментів ока, а також показав доцільність застосування ліпосомальної лікарської форми у розробці офтальмологічних препаратів.

Другий розділ присвячено запропонованій дисертантом методології досліджень, спрямованих на фармацевтичну розробку ліпосомальних офтальмологічних крапель. У розділі подано стислий опис об'єктів і методів, що були використані під час виконання дисертаційної роботи.

У третьому розділі наведено результати проведених експериментів, які стосуються обґрунтування складу та розробки оптимальної технології виробництва ліпосомальних очних крапель на основі пептидного комплексу. Проведено оцінку ризиків при виробництві ліпосомального офтальмологічного препарату. З метою оптимізації технологічного процесу визначено метод і параметри концентрування екстракту депротейнізованого дермального шару свинячої шкіри для отримання активного фармацевтичного інгредієнту. На основі проведених технологічних досліджень запропоновано технологічну схему виготовлення ліпосомальних очних крапель.

Четвертий розділ присвячений розробці методик контролю якості готової лікарської форми ліпосомальних очних крапель на основі пептидного комплексу.

Запропоновано методики кількісного визначення фосфатидилхоліну, пептидів та супровідних домішок у ліпосомальному лікарському засобі із застосуванням високоефективної рідинної хроматографії та проведено їх валідацію. За результати досліджень розроблено проєкт МКЯ. Проведено дослідження стабільності зразків лікарського засобу, отриманих у процесі дослідно-промислового виробництва на АТ «Фармак» та визначено рекомендований термін зберігання при температурі 2–8 °С, який становить 24 місяці.

У *п'ятому розділі* представлено результати дослідження безпечності ліпосомальних очних крапель на основі пептидного комплексу на основі аналізу гострої та субхронічної токсичності, а також місцевоподразливої дії препарату. Проаналізовано специфічну фармакологічну активність лікарського засобу, що охоплює репаративні та протизапальні властивості, у порівнянні з плацебо та препаратом порівняння.

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

Список використаних джерел оформлений згідно з чинними вимогами та відображає широке опрацювання дисертантом даних наукової літератури.

Академічна доброчесність. Дисертаційна робота Круглова Є.М. є самостійною завершеною працею. Ознак порушення академічної доброчесності в роботі та представлених публікаціях немає.

Зауваження та рекомендації щодо змісту і оформлення дисертації. Загальний аналіз дисертаційної роботи Круглова Євгена Михайловича засвідчує, що всі проведені експериментальні дослідження виконано на високому науковому рівні з використанням сучасних дослідницьких підходів і методів аналізу. Робота спирається на ґрунтовну теоретичну основу та якісно опрацьований науковий матеріал. Обрана тематика є надзвичайно актуальною для сучасної медицини й фармації, а результати досліджень і сформульовані висновки є чіткими, аргументованими, логічними та повністю відповідають поставленим у роботі науковим завданням.

Оцінюючи дисертаційну роботу Круглова Євгена Михайловича у цілому

позитивно, вважаю за доцільне висловити деякі зауваження:

1. У розділі 3.4.1 бажано було б навести хроматограми досліджуваних зразків ліпосом, отриманих при вивченні інкапсуляції пептидного комплексу, розглянути фракційний склад ліпосом, вільних пептидів у порівнянні із стандартними зразками пептидів.

2. Варто зазначити, що в анотації вказано методи трансмісійної електронної мікроскопії та динамічного світлорозсіювання для визначення відсотка інкапсуляції пептидів депротейнізованого дермального шару шкіри свиней у ліпосому, проте ці методи дозволяють визначити лише розмір ліпосом, що і зазначено у розділі 3.4.1.

3. Доцільно було б навести таблиці з результатами фармакологічних досліджень ліпосомального препарату, плацебо, Солкосерилу з метою порівняльної оцінки специфічної фармакологічної активності.

У порядку проведення наукової дискусії бажано отримати відповіді на такі запитання:

1. Яким методом визначали молекулярні маси пептидів у готовому препараті? Які стандарти використовувалися?

2. Згідно даних, наведених у таблиці 3.13, розмір ліпосом 120-140 нм обрано як оптимальний для максимального включення пептидів. Проте в описі продукту вказано два піки ліпосом з розмірами до 100 нм і до 400 нм. На якій стадії утворюються ці два піки з меншими та значно більшими розмірами?

3. У роботі вказано, що інкапсуляція пептидів у ліпосоми становить 100%. Як Ви бачите механізм проникнення пептидів через ліпідну мембрану?

4. Враховуючи термічну нестабільність як пептидів, так і фосфоліпідів, чому при виборі методу стерилізації ліпосомального препарату на основі пептидного комплексу застосовували термічну стерилізацію при 121 °C протягом 15 та 30 хвилин?

Висновок. На підставі викладеного вище вважаю, що дисертаційна робота Круглова Євгена Михайловича на тему «Розробка технології та стандартизація

ліпосомальної форми очних крапель репаративної дії на основі пептидного комплексу» є самостійною працею, завершеним науковим дослідженням, а отримані нові науково обґрунтовані експериментальні результати, відповідають вимогам фармацевтичної розробки лікарських засобів та мають важливе значення для розвитку фармацевтичної науки і практики. За актуальністю, обсягом досліджень, рівнем впровадження одержаних результатів, їх новизною та практичною значимістю дисертаційна робота 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 КМУ від 12 січня 2022 року № 44, а її автор, Круглов Євген Михайлович, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Офіційний опонент:

Доктор філософії, доцентка кафедри біотехнології,
молекулярної біології та водних біоресурсів
Державного біотехнологічного університету

Дар'я ПИЛИПЕНКО