

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации **Сливкина Алексея Ивановича** на диссертационную работу Павлова Алексея Никитича «Разработка состава и технологии получения назальных капель с пролонгированным высвобождением для лечения болезни Паркинсона», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств.

Актуальность темы исследования

Программа фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период 2021 - 2030 годы, утвержденная распоряжением Правительства направлена в том числе на разработку оригинальных по структуре и механизму действия лекарственных средств для лечения нейродегенеративных заболеваний.

Нейродегенеративные заболевания – группа относительно медленно развивающихся заболеваний с преимущественным поражением серого вещества центральной нервной системы. К ним относится болезнь Паркинсона – хроническое прогрессирующее заболевание головного мозга, преимущественно связанное с дегенерацией дофаминергических нейронов черной субстанции. На сегодняшний день для фармакотерапии паркинсонизма применяют холинолитические средства, производные аминоадамантиана, ДОФА-содержащие средства, ингибиторы моноаминоксидазы типа В, ингибиторы катехол-О-метилтрансферазы и агонисты дофаминовых рецепторов. «Золотым стандартом»

терапии болезни Паркинсона на протяжении многих лет остаются ДОФА-содержащие лекарственные средства. Леводопа включена в Перечень лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций для медицинского применения, производство которых рекомендуется обеспечить в Евразийском экономическом союзе до конца 2024 года.

Недостатки применения стандартных форм L-ДОФА обусловлены резкими колебаниями содержания препарата в крови после приема, что с развитием болезни способствует «пульсирующей» стимуляции дофаминовых рецепторов, на фоне которой развивается клиническая картина двухфазного эффекта: on-эффект на пике дозы субъективно воспринимающийся как исчезновение симптомов заболевания и off-эффект, когда при снижении уровня дофаминовой стимуляции отмечаются наиболее сильные клинические проявления болезни.

При пероральном приеме возникают сложности, связанные с низкой биодоступностью, а также «преждевременным» биохимическим превращением предшественника в дофамин на периферии, приводящее к снижению доступности препарата для мозга и к необходимости использования препаратов-ингибиторов периферического метаболизма L-ДОФА, что сопровождается значительными побочными эффектами при хроническом введении. В связи с этим, актуальной задачей является повышение биодоступности L-ДОФА, используя ЛС в пролонгированной форме в составе полимера с регулируемым высвобождением и использованием назального пути введения. Назальная доставка ЛС рассматривается как актуальная альтернатива пероральному приему, поскольку назальная полость легкодоступна, обильно васкуляризирована, хорошо проницаема, имеет большую площадь поверхности, что способствует хорошей всасываемости и увеличению биодоступности.

Основной сложностью при этом является низкая растворимость L-ДОФА в воде и быстрая скорость его метаболизма на периферии. Подходом к устранению перечисленных недостатков является включение действующего вещества в биodeградируемый и нетоксичный сополимер молочной и гликолевой кислот.

Предлагаемые подходы, а именно, создание ЛС с контролируемым

временем деградации на основе биodeградируемого сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA) и использование назального пути введения, приведет к снижению терапевтической дозы препарата, снижению побочных эффектов и увеличению эффективности терапии за счет контролируемого высвобождения, оптимизации биораспределения и более щадящего, фармакологического действия.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В настоящее время в мире не существует зарубежных и российских объектов исследований аналогичных разрабатываемым технологиям, не зарегистрировано заявок, в которых бы рассматривались перспективы потенциального использования активной фармацевтической субстанции 3,4-дигидрокси-L-фенилаланина (Леводопа) в форме наночастиц с полилактидгликолидами и применяемым в виде назальной формы. Не зарегистрированы лекарственные препараты в виде данной лекарственной формы, что доказывает актуальность и новизну выполняемого исследования.

Основные научные положения, выводы и рекомендации, изложенные в диссертационной работе, обоснованы достаточным количеством проанализированных научных литературных источников по фармацевтической разработке, знанием нормативно-правовой базы фармацевтической разработки и контроля качества инновационных ЛП, достаточным объемом экспериментальных данных по исследуемому объекту.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность полученных результатов обусловлена необходимым объемом экспериментального материала, однородностью выборки объектов эксперимента, применением современных методов исследования, сертифицированного и поверенного оборудования, валидацией разработанных методик, применением методов математической статистики, теоретическим обоснованием полученных экспериментальных данных.

В данной работе представлены результаты разработки ЛС Дофаминин, на

основе АФС ДОФА-ПК, представляющей собой интраназальную ЛФ для лечения болезни Паркинсона. Определен целевой профиль качества, изучаемого ЛС в части, касающейся качества и безопасности, с учетом пути введения ЛФ, биодоступности, дозировки и стабильности; определены критические характеристики качества. Изучены физико-химические, биофармацевтические и технологические характеристики АФС ДОФА-ПК, необходимые для разработки ЛС Дофаминин. Проведена фармацевтическая разработка (ФР): выбран состав, разработана технология получения, разработаны методики контроля качества, изучена стабильность ЛС Дофаминин, на основе АФС ДОФА-ПК. Разработан проект нормативного документа по качеству (НД) и опытно-промышленный регламент (ОПР) на ЛС Дофаминин. Получен патент РФ № RU № 2697411 «Композиция для лечения болезни Паркинсона» (2019 г.).

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Заключается в разработке и изучении ЛС Дофаминин, на основе АФС ДОФА-ПК. В ходе исследования получены практические данные по биофармацевтическим, физико-химическим и технологическим свойствам АФС ДОФА-ПК с повышенной биодоступностью, оценена его стабильность. Полученные данные могут быть использованы при составлении регистрационного досье на проектируемый ЛП. Предложен состав и технология получения ЛС Дофаминин, удовлетворяющие основным регуляторным требованиям. Результаты представляют собой данные фармацевтической разработки и являются основой для дальнейшего масштабирования, оптимизации и изучения характеристик проектируемого ЛП с целью его потенциального вывода на фармацевтический рынок.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств, конкретно пунктам

Полнота освящения результатов диссертации в печати. Количество публикаций в журналах из Перечня ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных

По результатам исследования автором опубликовано 14 научных работ, в том числе 2 оригинальные научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; статья в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, статьи по результатам диссертационного исследования, 6 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 2 зарубежных конференций), 1 патент на изобретение Российской Федерации.

Структура и содержание диссертации

Диссертация изложена на 233 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, выводов, списка литературы, приложений. Работа иллюстрирована 71 таблицей и 28 рисунками. Список литературы включает 196 источников, из них 117 на иностранных языках.

В **главе 1** в ходе изучения литературных данных автором установлен уровень разработок лекарственных средств для лечения болезни Паркинсона, терапевтические свойства средств на основе L-ДОФА и пути повышения ее биодоступности. Выявлен потенциал применения полимерной композиции L-ДОФА в качестве действующего вещества для разработки ЛФ на его основе. Проведена оценка многочисленных исследований создания ЛС для интраназального применения, выявлены ключевые особенности технологических, биофармацевтических свойств интраназальных ЛФ, которые необходимо учитывать для их разработки.

Автором в процессе анализа литературных источников было установлено, что препараты L-ДОФА /бенсерзида с пролонгированным высвобождением

имеют желатиновую оболочку, которая при контакте с желудочным соком постепенно растворяется. Достигнув желудка, капсулы превращаются в слизистую субстанцию, длительно задерживающуюся в желудке и высвобождающую активное вещество с постоянной скоростью.

Избежать недостатков перорального введения L-ДОФА, в том числе – прохождения препарата через печень, где Леводопа подвергается метаболизму и теряет терапевтическую активность, возможно при изменении пути введения. Внутривенное введение лишено недостатков перорального, связанных с всасыванием в ЖКТ, однако практически неприменимо для ежедневного использования из-за сложности медицинской процедуры.

В литературе описано применение микросфер или наночастиц, которые улучшают абсорбцию препарата на периферии и его прохождение через ГЭБ. Применение биodeградируемых микросфер с Леводопой и бенсеразидом улучшает двигательные функции и уменьшает выраженность дискинезий.

При исследовании трансдермального пути введения автором было обнаружено, что Леводопа сама по себе не проникает через кожу, хотя применение церуленина в сочетании с хлоридом кальция растворённых в смеси из пропиленгликоля и этанола может повысить проницаемость кожи для этого препарата. Такая лекарственная форма может служить неинвазивным подходом к непрерывной доставке L-ДОФА в организм человека; вместе с тем остаётся ряд затруднений, обусловленных размером пластыря и возможными местными кожными реакциями.

Чтобы преодолеть короткое время пребывания лекарств в полости носа в результате мукоцилиарного клиренса, в состав лекарственной формы следует вносить различные мукоадгезивные наполнители и полимерные композиции, чтобы увеличить время контакта со слизистой оболочкой носа, тем самым увеличивая вероятность всасывания АФС.

применения в медицине. В последние годы показано, что в носовой полости может происходить активное всасывание ряда лекарственных веществ, которые подвергаются расщеплению в желудочно-кишечном тракте

В главе 2 описан дизайн исследования, в основу которого были заложены основные принципы и рекомендации, изложенные в руководстве ICH Q8 «Фармацевтическая разработка», описаны материалы и методы, использовавшиеся в процессе научно-исследовательской работы.

Для ФР разрабатываемого ЛС был определен назальный способ доставки АФС, включенной в полимерную композицию. Назальная доставка ЛС рассматривается как актуальная альтернатива пероральному приему, поскольку назальная полость легкодоступна, обильно васкуляризирована, хорошо проницаема, имеет большую площадь поверхности, что способствует всасываемости и увеличению биодоступности.

В главе 3 автором был разработан дизайн исследования, представляющий собой поэтапный последовательный процесс, заключающийся в изучении необходимых физико-химических характеристик АФС ДОФА-ПК, разработке модельной системы поверхности назального эпителия *in vitro*, методики высвобождения ЛС *in vitro*, оценке совместимости компонентов, изучении показателей качества ЛФ, а также исследовании стабильности. Установлен целевой профиль качества, представляющий собой проспективное резюме характеристик качества будущего ЛС, которые должны быть достигнуты, чтобы обеспечить желаемое качество, принимая во внимание безопасность и эффективность.

Были определены основные требования, которыми должно обладать разрабатываемое ЛС – структура, способ доставки, эффективность в отношении основных симптомов заболевания, путь введения, уровень ЛД₅₀, безопасность. Изучены физико-химические характеристики полимерной композиции ДОФА-ПК и определены показатели качества. Исходя из свойств системы «назальная слизистая/назальный секрет», для моделирования поведения разрабатываемого

ЛС была разработана модельная поверхность (слизистая) и модельная жидкость (назальный секрет) из искусственных материалов.

Для разработки модельной жидкости была выбрана композиция раствора оксиэтилцеллюлозы 4 %, которая удовлетворяла предъявляемым требованиям. Для разработки модельной поверхности *in vitro*, имитирующей слизистую, были выбраны композиции на основе акриламида. Полиакриламидные гели относительно просты в приготовлении, доступны, а их физико-химические характеристики позволили получать поверхности с необходимыми структурно-механическими свойствами. Максимальное визуальное соответствие биологической структуре *in vivo* наблюдалось у модельной поверхности, полученной на основе полиакриламидного геля с содержанием 20 % акриламида и 0,25 % *бис*-акриламида.

В главе 4 автором была научно обоснована разрабатываемая лекарственная форма изучаемого вещества. Выбор вспомогательных веществ при разработке был обусловлен их физико – химическими и технологическими свойствами, характеристиками вводимого фармакологически активного компонента, физико-химическими параметрами слизистой носа и назального секрета.

Для разработки лекарственного средства на основе АФС ДОФА-ПК были получены составы следующих лекарственных форм, применяемых в назальной доставке: назальные капли с водой очищенной и маслами в качестве дисперсионной среды; гели назальные.

С целью определения наиболее рационального состава разработанных назальных композиций на основе АФС ДОФА-ПК, была проведена оценка их поведения на модельной системе *in vitro*. Оценка проводилась по показателям площади распределения и степени адгезии на разработанной модельной поверхности. В соответствии с установленными значениями скоростей стекания образцов на модельной системе была вычислена функция отклика с помощью построения матрицы и установлен диапазон пространства проектного поля для выбора составов, соответствующих реологическим требованиям в условиях *in vivo*.

В главе 5 представлены данные по разработке технологии получения назальных капель ЛС Дофаминин, включающей в себя на первом этапе образование суспензии L-ДОФА с полимером PLGA 50/50 в дисперсионной среде хлороформа, с последующим эмульгированием в растворе 2 % ПВС, насыщенного L-ДОФА, с дальнейшим упариванием хлороформа, добавлением раствора маннитола и проведением процесса лиофилизации. Второй этап включает получение суспензии ЛФ в растворе твина - 80 и масле оливковом.

Разработаны технологическая и аппаратурная схемы получения ЛС Дофаминин, которые наглядно отображают последовательность выполнения производственных работ с разделением их по стадиям и операциям технологического процесса, указанием основных материальных потоков (поступление сырья, получение промежуточных продуктов) и мест образования отходов, потерь, систем очистки и утилизации. Выбраны оптимальные технологические режимы и определены контрольные точки, выбрана наиболее удобная упаковка в форме назальных капель.

Разработан ОПР производства ЛС Дофаминин, которым завершается отработка новой технологии производства ЛС на опытно-промышленной установке.

В главе 6 представлены результаты по проведению оценки химико-фармацевтических свойств АФС ДОФА-ПК для разработки методики контроля качества. Значение константы распределения свидетельствовало о преобладании распределения L-ДОФА в водной фракции, что было связано с ее хорошей растворимостью в воде. В соответствии с установленными физико-химическими характеристиками АФС были рассмотрены потенциально возможные методы количественного определения.

При разработке методики подлинности и количественного определения АФС ДОФА-ПК в ЛС Дофаминин был выбран и использован метод ВЭЖХ с диодноматричным детектированием. Основными характеристиками при разработке методики хроматографического определения являлись скорость потока подвижной фазы, температура термостата колонки, объем вводимой

пробы, температура автосамплера, время хроматографирования, характеристика колонки. Основное влияние на время удерживания оказывало изменение скорости потока мобильной фазы. Скорость потока была установлена на значении 0,8 мл/мин, при этом значении получались остроконечные пики, что соответствовало критерию приемлемости для оценки степени эффективности.

Проведена валидация данной методики. Валидация аналитической методики оценки подлинности и количественного определения выполнялась в соответствии с требованиями Решения Коллегии ЕЭК № 113, ГФ РФ, ФЕАЭС по следующим характеристикам: специфичность, правильность, повторяемость, промежуточная прецизионность, линейность, диапазон применения, по результатам которой устанавливалось возможность применения методики для инструментального анализа, разрабатываемого ЛС Дофаминин.

Оценка стабильности образцов была проведена в температурном режиме хранения как при 5 ± 3 °С, так и при 25 ± 5 °С, относительная влажность при этом составляла 60 ± 5 %. В процессе исследований по изучению стабильности была проведена оценка показателей качества образцов. По результатам оценки показателей качества на всем протяжении хранения при температуре 25 ± 5 °С и относительной влажности 60 ± 5 % образец серии № К-3 масл. 2-19052020 отмечался как более стабильный. В условиях пониженного температурного режима хранения все образцы ЛС были более стабильны, по сравнению с результатами аналогичных исследований при температуре 25 ± 5 °С. Оптимальной рекомендуемой температурой хранения ЛС Дофаминин является температура от 2 до 8 °С в течение 3 лет в сухом защищённом от света месте.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Сформулированные автором выводы являются логическим результатом аналитической обработки информации и экспериментальных данных, полученных в процессе диссертационного исследования. Автореферат полностью отражает содержание диссертационного исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Павлова Алексея Никитича «Разработка состава и технологии получения назальных капель с пролонгированным высвобождением для лечения болезни Паркинсона», бесспорно, имеет теоретическую и практическую значимость для фармацевтической отрасли и науки в целом.

В то же время, в процессе ознакомления с результатами исследования возникли следующие вопросы и замечания:

1. В диссертации присутствуют орфографические ошибки и опечатки.
2. Прокомментируйте, пожалуйста, как вы гарантировали биорелевантность разработанной модельной системы для определения скорости стекания образцов *in vitro*?
3. Поясните, почему в качестве лекарственной формы были выбраны назальные капли?
4. Какие этапы включает в себя технология получения АФС ДОФА-ПК?

Вышеуказанные замечания и вопросы носят уточняющий характер, не снижают научной и практической ценности диссертационного исследования и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Павлова Алексея Никитича «Разработка состава и технологии получения назальных капель с пролонгированным высвобождением для лечения болезни Паркинсона» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по разработке состава и технологии получения инновационной лекарственной формы для лечения болезни Паркинсона, имеющей существенное значение для промышленной фармации, что соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном

