

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Чжан Си «Разработка инъекционных лекарственных форм цифетрилина», представленную в диссертационный совет Д 208.040.09 при ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» (Сеченовский Университет) Минздрава России на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности: 14.04.01 – технология получения лекарств

Актуальность избранной темы

Одним из актуальных направлений развития фармацевтической науки является создание высокоэффективных готовых лекарственных средств противоопухолевого действия. В свете современных представлений о развитии гормонозависимых опухолей повышенный интерес вызывает поиск принципиально новых противоопухолевых веществ среди пептидных гормонов гипоталамуса. Особое внимание привлекает гипоталамический гормон соматостатин. Механизм противоопухолевой активности соматостатина определяется двумя путями реализации их ингибирующего действия – прямого и опосредованного. Прямой цитотоксический эффект обусловлен связыванием этих соединений с рецепторами к соматостатину на поверхности опухолевых клеток. Опосредованный антипролиферативный эффект соматостатина проявляется торможением секреции ряда гормонов и факторов роста опухолей (инсулиноподобного фактора роста, гастрина, глюкагона, вазоактивного интестициального пептида, инсулина, холецистокинина, мотилина, серотонина и др.).

Новые возможности в использовании соматостатинов в клинической онкологии появились при создании синтетических аналогов, обладающих пролонгированным действием и более широким спектром антипролиферативного и ингибиторного действия, а также малыми побочными эффектами. Современная предклиническая стратегия применения аналогов соматостати-

на базируется на трансфекции генов *SSTR2*, которые, как выявлено на моделях рака поджелудочной железы, обладают антионкогенными свойствами. При этом противоопухолевый эффект генной трансфекции может быть существенно усилен системной химиотерапией цитостатиками и радионуклеотидами.

Перспективным противоопухолевым агентом в группе синтетических аналогов соматостатина является цифетрилин. Этот фармакологически активный ингредиент – результат активных исследований по поиску потенциальных противоопухолевых соединений в ряду аналогов соматостатина методами классической пептидной химии, проводимых в лаборатории химического синтеза Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина. В результате проведенной работы синтезирован ряд аналогов соматостатина, среди которых высокую противоопухолевую активность в исследованиях *in vitro* и *in vivo* показал цифетрилин.

По структуре цифетрилин представляет собой защищенный по функциональным группам пентапептид, практически не растворимый в воде. На основе цифетрилина в лаборатории разработки лекарственных форм ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России создана пероральная лекарственная форма (ЛФ) «Цифетрилин, таблетки 6 мг», которая в настоящее время находится на стадии клинических исследований у пациентов с нейроэндокринными опухолями. Для повышения эффективности цифетрилина и расширения линейки лекарственных форм перспективна разработка инъекционной лекарственной формы указанного соединения.

Одним из способов солюбилизации нерастворимых в воде лекарственных веществ (ЛВ) и повышение их терапевтической эффективности является включение их в специальные носители. В последние годы все большую популярность приобретают разработки лекарственных препаратов в виде липосомальных систем, многие из которых успешно применяются в клинической практике. Свойства мембранотропности, а также поверхностные характеристики липосом позволяют рассматривать их в качестве перспективных си-

стем доставки препаратов в кровеносное русло. Изучение возможностей стабилизации лиофилизацией липосомальной лекарственной формы цифетрилина представляет большой научный и практический интерес.

В связи с этим не вызывает сомнения актуальность для фармацевтической науки цель, поставленная в диссертации Чжан Си, - создание лиофилизата липосомальной лекарственной формы цифетрилина для инъекционного введения. Исходя из представленных материалов, можно сделать заключение, что цель и задачи, поставленные в работе Чжан Си, соответствуют шифру специальности 14.04.01 – технология получения лекарств.

Диссертация выполнена в соответствии с комплексной научной темой ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) «Развитие научных и научно-методических основ, базовых и инновационных подходов при разработке, внедрении и применении лекарственных средств» (номер государственной регистрации 01201261653) и планом научно-исследовательских работ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по теме «Инъекционные лекарственные формы гидрофобных субстанций» (2014–2018 гг.).

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

Анализ диссертационной работы Чжан Си показывает, что все разделы выполнены на современном научном уровне, подтверждены экспериментальными данными. Положения и выводы научно обоснованы и достоверны.

Основные положения диссертации обсуждены: на XIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты» памяти А.Ю.Барышникова (17-18 марта 2016 г., Москва) и XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием имени А.Ю.Барышникова «Отечественные противоопухолевые препараты» (16-17 марта 2017 г., Москва).

По результатам работы опубликованы 5 публикаций, из них 3 статьи в ведущих периодических изданиях, рекомендованный ВАКом для размещения материалов диссертаций.

Достоверность и новизна исследования и полученных результатов.

В научной работе Чжан Си использованы современные технологические (экструзия, УФ-обработка, гомогенизация, ультрафильтрация, лиофилизация) и физико-химические (спектрофотометрия, электронная микроскопия, хроматография, фотонный корреляционный анализатор), а при обработке результатов – методы математической статистики.

Автором диссертационного исследования Чжан Си впервые показана возможность использования цифетрилина для создания ЛЛФ для инъекционного применения в виде лиофилизата.

Разработаны состав и технология стабилизированной ЛЛФ цифетрилина с высоким уровнем включения ЛВ (97 %) и размером липосом в интервале от 100 до 200 нм.

Получена фармацевтическая композиция в виде лиофилизата, включающая липосомальную дисперсию цифетрилина и сахарозу в качестве криопротектора, предназначенная для инъекционного введения.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Экспериментально-практический материал, представленный в диссертации, по обоснованию выбора состава и способа получения стабилизированной ЛЛФ цифетрилина можно использовать в качестве **теоретической базы** для создания лиофилизированных ЛЛФ гидрофобных субстанций

Практическая значимость работы определяется комплексом технологических исследований по разработке инъекционной ЛФ отечественного аналога соматостатина «Цифетрилин липосомальный, лиофилизат для приготовления дисперсии для инъекций 6,0 мг».

Результаты исследования внедрены в работу лаборатории разработки лекарственных форм НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и учебный процесс кафедры фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Диссертационная работа Чжан Си построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, описывающей материалы и методы, 3 глав собственных экспериментальных исследований, общих выводов, списков иллюстрационного материала и используемых сокращений, библиографического списка, включающего 143 источника (из них 125 зарубежных) и 3 приложений. Работа изложена на 151 странице, содержит 29 таблиц, 25 рисунков. В приложениях приведены акты внедрения результатов научного исследования в работу лаборатории разработки лекарственных форм ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и кафедры фармацевтической технологии Института фармации и трансляционной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), результаты изучения противоопухолевой активности лисомального цифетрилина на ряде экспериментальных опухолей мышей, проведенных в лаборатории экспериментальной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Первая глава диссертации представляет собой обзор литературы, который посвящен характеристике соматостатина и его аналогов, в том числе объекта настоящего исследования – цифетрилина, и липосом. В главе приводятся подробные сведения о природных соматостатинах и их аналогов.

Учитывая низкую растворимость цифетрилина в воде, обосновано целесообразность разработки технологии его инкапсулирования в липосомальную систему доставки лекарственных средств. В обзоре подробно рассмотрены свойства, состав, структура, классификация и методы получения липосом, современные подходы к созданию липосомальных лекарственных форм, а также контроль их качества. На мой взгляд, в обзоре необходимо было бы проанализировать номенклатуру и состав современных липосомальных лекарственных средств в виде инъекционных форм, используемых для лечения онкологических заболеваний

Во второй главе представлены сведения о материалах и методов экспериментальной части исследования. Дана характеристика компонентов, используемых для создания липосомальной мембраны, вспомогательных веществ для фильтрации и экструзии, описаны основные этапы получения липосом (получение липосом с цифетрилином, стерилизация и лиофилизация ЛЛФ цифетрилина). Представлены методики анализа цифетрилина в липосомальной дисперсии до и после лиофилизации хроматографическими и спектрофотометрическими методами, а также определения свойств липосомальных дисперсий (количество включенного цифетрилина в липосомы, pH, размер и форму липосом, уровня перекисного окисления липидов).

В главе 3, составляющую центральную часть диссертации Чжан Си, изложены результаты экспериментальных исследований по разработке состава и технологии лиофилизата ЛЛФ цифетрилина. При этом особое внимание уделено выбору состава и метода получения липосом, от которого зависит размер везикул, степень окисления липидов, эффективность включения инкапсулируемого вещества, стабильность при хранении и другие показатели.

На основании экспериментов из 11 исследуемых моделей выбран состав с молярными соотношениями цифетрилин/фосфатидилхолин 1:70 и фосфатидилхолин/холестерин/ПЭГ-ДГФА 1:0,2:0,014, который обеспечивает самый высокий уровень включения цифетрилина 97 % и получение однородных липосом приемлемого размера 180 ± 6 нм.

Представляет интерес эксперименты, результаты которых рассмотрены в разделе 3.1.2, по изучению влияния антиоксиданта (α -токоферол) на качество липосомальной дисперсии цифетрилина. И хотя в результате установлено, что исследованный антиоксидант практически не оказывает протекторного действия в отношении липосомальных липидов, а также отрицательно влияет на технологический процесс получения препарата, однако считаю, что работы по поиску подходящих антиоксидантов по разработанной методике, необходимо продолжить.

Разработка технологии лиофилизата ЛЛФ цифетрилина (раздел 3.2.) включала выбор условий проведения таких технологических этапов как получение липидной пленки из органического раствора, формирование многослойных липосом путем гидратации пленки, получение дисперсии однослойных липосом приемлемого размера (100–200 нм), стерилизующая фильтрация и лиофилизация липосомальной дисперсии. При проведении сравнительной оценки качества липосомальных дисперсий при применении наиболее распространенных методов их получения установлено, что измельчение многослойных липосом цифетрилина целесообразнее проводить методами экструзии с использованием поликарбонатных фильтров с размером пор 0,2 мкм (в лабораторных условиях) или гомогенизации (при масштабировании процесса). На этапе отделения невключенного в липосомы цифетрилина применяется метод фильтрации, который сочетается со стерилизацией липосомальной дисперсии с использованием нейлоновых мембранных фильтров с размером пор 0,45 и 0,22 мкм. Для стабилизации и повышения срока хранения ЛЛФ цифетрилина выбран ксеропротектор (криопротектор) и условия ее сублимационного высушивания.

В результате обобщения результатов предложены состав и технологическая схема получения препарата «Цифетрилин липосомальный, лиофилизат для приготовления дисперсии для инъекций 6,0 мг».

Следующий раздел работы Чжан Си (глава 4) посвящен обоснованию и разработке методик качественного и количественного анализа ЛЛФ

цифетрилина и ее лиофилизата. В результате проведенных исследований предложены хроматографические системы для ТСХ-анализа цифетрилина, фосфатидилхолина, холестерина, сахарозы и проведена оценка их пригодности по определению предела обнаружения веществ.

Для количественного определения цифетрилина в ЛЛФ и ее лиофилизате разработана методика спектрофотометрического анализа. При валидации установлено, что разработанная методика количественного анализа цифетрилина в интервале 70–130 % от номинального значения определяемой концентрации ЛВ является специфичной, линейной, правильной и прецизионной.

В главе 5 на основании результатов, полученных в ходе исследования образцов разработанной ЛФ, определены показатели качества на «Цифетрилин липосомальный, лиофилизат для приготовления дисперсии для инъекций 6,0 мг» и установлены их нормы: описание, регидратируемость (растворимость), подлинность, количественное определение, однородность дозирования, однородность массы лиофилизата, размер везикул, значение рН, средняя масса содержимого флакона, потеря в массе при высушивании. Испытания на стабильность проведены на 3 сериях препарата «Цифетрилин липосомальный, лиофилизат для приготовления дисперсии для инъекций 6,0 мг» при хранении в морозильной камере при температуре -18°C (температура хранения липидов) в течение 18 месяцев. При этом установлен срок годности для препарата – 6 месяцев.

Работа построена логично, выводы по главам и общие выводы полностью соответствуют проведенным исследованиям. Наличие списка иллюстрационного материала в конце диссертации позволяет создать более полное представление о выполненном диссертантом Чжан Си исследовании.

При рассмотрении работы возникли следующие **замечания и вопросы**:

Замечания по работе:

1. В работе не указаны режимы высушивания лиофилизата, при этом хотелось бы услышать пояснения диссертанта о выбранном соотношении в составе препарата «Цифетрилин липосомальный, лиофилизат для приготовления дисперсии для инъекций 6,0мг» лекарственного средства и ксеропротектора сахарозы.

2. В технологической схеме получения липосомальной лекарственной формы лиофилизата цифетрилина на рис. 15 стр.87 отсутствуют контрольные точки микробиологического (биологического) контроля

3. В списке сокращений пропущены некоторые позиции (например ЯФХ, ДГФА)

Вопросы по работе:

1. Какой механизм лежит в основе связывания цифетрилина с формирующими компонентами бислая липосом ?

2. Как в технологическом процессе инъекционных лекарственных форм липосомального лиофилизата цифетрилина обеспечиваются такие требования к инъекционным растворам как отсутствие механических включений и пирогенность?

3. Определяли ли срок годности липосомальной суспензии цифетрилина и сколько он составляет? Проводилось ли сравнение с сроками годности инъекционных лекарственных форм других аналогов соматропина.

4. Проведено ли определение токсичности полученной лекарственной формы цифетрилина?

Высказанные замечания и вопросы не принципиальны и не снижают ценности диссертационной работы. Результаты исследований статистически достоверны, убедительны и достаточно хорошо апробированы. Автореферат полностью отражает содержание диссертации Чжан Си.

Таким образом, диссертационная работа Чжан Си «Разработка инъекционных лекарственных форм цифетрилина» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи разработки технологии и стандартизации инъекционных форм отечественного противоопухолевого препарата цифетрилина, имеющей существенное значение для фармацевтической промышленности, что соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, в редакции Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, а ее автор, Чжан Си, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств.

Официальный оппонент,

Доктор фармацевтических наук ,
(15.00.01 – технология лекарств и организация фармацевтического дела),
профессор кафедры промышленной технологии лекарств
с курсом биотехнологии
федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации;

614990, Российская Федерация, Пермский край,
г. Пермь, ул. Полевая, 2
Телефон/факс (342) 282-58-24
(342) 233-55-01
Электронная почта: perm@pfa.ru

Е. Молохова

Молохова Елена Игоревна

16 марта 2018 года

Подпись
завсряло: *Молоховой Е.И.*
(нач. отдела кадров)

