

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Пламен Тодоров Пейков, дф,

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ на ас., маг. фарм. Надежда Антонова Иванова - докторант в самостоятелна форма на обучение в докторска програма „Фармацевтична химия“, област на висше образование 7. „Здравеопазване и спорт“ и професионално направление 7.3. „Фармация“, на тема „Нови аспекти в анализа на Diltiazem базирани полимерни лекарство-доставни системи“, Фармацевтичен факултет, МУ-Варна.

Ас. Надежда Иванова е родена през 1989 г. Завършва Първа езикова гимназия, гр. Варна през 2008 г. Придобива образователната и квалификационна степен „Магистър фармацевт“ във Фармацевтичен факултет, МУ-София през 2013 г. Трудовият стаж на маг.фарм. Иванова, като преподавател, започва през 2014 г. с конкурс за асистент във Фармацевтичен факултет, МУ-Варна, с преподавателска и научно-изследователска работа в област „Технология на лекарствените форми с биофармация“. През 2019 г. придобива специалност по „Технология на лекарствата и биофармация“ в МУ-Варна.

Дисертационният труд съдържа 134 страници, 13 таблици, 52 фигури и 5 приложения. Цитирани са 190 литературни източника, от които 46 от последните 5 години.

Структурата на докторската работа е мултидисциплинарна : фармацевтична химия (синтез и фармако-аналитично охарактеризиране); лекарствена технология и биофармация; полимерна химия и фармакология. Литературният обзор аргументира целта и задачите на научната разработка, които са поставени изключително точно. Дисертацията е изградена на пет основни центъра, които обхващат: Diltiazem Hydrochloride и Diltiazem база (подход за превръщане на хлороводородната сол в база, спектрално охарактеризиране и разтворимост); Diltiazem-натоварени полимерни лекарство-доставни системи от microsponge-тип (подходи за получаване и структурно охарактеризиране); приложение на QCM-метод (метод на кварцово-кристалната микровезна) за количествен анализ на Diltiazem в полимерна матрица; прогнозиране на терапевтичния потенциал на Diltiazem-натоварени полимерни частици (*in vitro* и *ex vivo*

изследвания); стабилност на Diltiazem в различни полимерни среди – хидролитична оценка.

Много удачен е изборът на лекарствената молекула Diltiazem Hydrochloride, която в структурата си има базичен азотен атом и естерен фрагмент при С3. Получените резултати биха могли да послужат като насоки при аналогични изследвания на други лекарствени структури.

За синтез на полимерните лекарство-доставни системи от *microsponge*-тип с Diltiazem, докторантката използва квази-емулсионен подход с дифузия на разтворител. Очевидно хлороводородната сол на Diltiazem ще води до загуба на лекарствени молекули поради дифузия към водната фаза. Проблемът е решен с превръщането на солта в база, която има определена неразтворимост във вода и е реализирано необходимото включване на Diltiazem-база в частиците полимер. Използвайки подхода „факториален дизайн“ се характеризират и установяват физикохимичните и биофармацевтичните свойства на лекарствената молекула, като се определя оптималната система за доставяне на лекарството. Изследван е ефектът на три вариабилни фактора на синтеза и взаимното влияние на променливите: лекарствена молекула към полимер, количество на органичната фаза и концентрация на сърфактант във водна среда, повлияващи добива, натоварването на лекарството и големината на частиците. Оптималният състав на натоварената с Diltiazem сферична, високо-порьозна и микроразмерна полимерна матрична структура е достигнат след достатъчно на брой експерименти с използване на статистически прогнозирани методологични варианти. Получените лекарство-доставни системи убедително са фармако-аналитично охарактеризирани със съвременни методи: ATR-FTIR спектроскопия, DSC термичен анализ, морфологичен SEM анализ, елементен SEM-EDX анализ.

Принос с фундаментално и научно-приложно значение е прилагането на QCM-метод (метод на кварцово-кристалната микровезна) за определяне на съдържанието на Diltiazem в матрични системи от Eudragit RS. Лекарствената субстанция Diltiazem Hydrochloride е описана в *Ph Eur* и според този документ количественият анализ е титруване с перхлорна киселина и *end-point* се определя потенциометрично, а определянето на примесите е течно хроматографски. Много точно, докторантката отбелязва невъзможността за използване на фармакопейните методи за количествено определяне на

активния принцип в лекарство-доставната система. Първо се получава хлороводородната сол на Diltiazem, директно в анализираната проба. Получените резултати показват, че разработеният QCM метод за количествен анализ на Diltiazem Hydrochloride в състава на така формираните полимерни системи показва много по-високи нива на точност и прецизност от тези на класическия UV-Vis спектрален метод, също експериментиран от докторантката. Методът е валидиран съгласно препоръките на „Международната конференция по хармонизация на техническите изисквания при регистриране на лекарствени продукти за хуманна употреба“ (ICH) по отношение показателите: селективност; точност; прецизност; линейност; повторяемост; възпроизводимост.

Лекарството Diltiazem Hydrochloride намира терапевтично приложение и локално за лечение на анални фисури, като лекарствената форма е 2% крем или гел. Докторантката много точно, теоретично определя на база физикохимичните свойства на лекарството негови недостатъци, като ниска молекулна маса, слаба йонизируемост при физиологичното рН в ректума, висока водоразтворимост и бързо освобождаване на лекарството. Направеният извод за потенциална лекарствена ефективност е точен – бавно освобождаване, което кореспондира с необходимост от изследване на стабилността на лекарствената молекула. След синтез на Diltiazem-натоварени *Eudragit RS microsponge* частици и превръщането на базата в хлороводородна сол, са приложени като лекарство-доставни системи в състава на хидрогели с потенциално приложение за лечение на хронични анални фисури. За нуждите на експеримента са приготвени хидрогели с Diltiazem Hydrochloride и Diltiazem Hydrochloride-натоварени *microsponge* частици. За прогнозиране на терапевтичния потенциал на хидрогелите е приложен *in vitro* тест за освобождаване и *ex vivo* тест за пермеация и абсорбция на лекарството. И двата теста са проведени с помощта на клетка на Франц. Резултатите категорично доказват, че лекарство-натоварените *microsponge* частици в ректалните хидрогели водят до удължаване на лекарственото освобождаване, забавяне на мукозната пермеация и абсорбция, и потенциране на лекарственото задържане в ректалната мукоза.

Много точно, докторантката се насочва към изследване на стабилността на Diltiazem, която е от значение за потенциалното локално терапевтично приложение на синтезираните лекарство-доставни системи. При СЗ в химичната структура има естерен

фрагмент, който може да хидролизира и да се получи (2S,3S)-5-[2-(dimethylamino)ethyl]-3-hydroxy-2-(4-methoxyphenyl)-2,3-dihydro-1,5-benzothiazepin-4(5H)-one. Това съединение, като примес търси и Европейската фармакопея. Хидролитичната стабилност на Diltiazem е изследвана с *HPLC* метод при три опитни проби: воден разтвор, *Poloxamer 407* хидрогел (Pх-DTZ) и *Poloxamer 407* хидрогел с *microsponge* частици (F13-Pх-DTZ). Хидролизата е проследена на 4-ти, 6-ти и 10-ти месец. Хидролитичната стабилност на Diltiazem намалява в реда - воден разтвор > конвенционален хидрогел (Pх-DTZ) > *microsponge*-потенциран хидрогел (F13-Pх-DTZ). Не се наблюдава друг разпаден продукт освен O-desacetyl Diltiazem. Това нарастване на концентрацията на продукта след хидролиза е вероятно да следва полимодална, а не мономодална зависимост. Ето защо категорично заключение за порядъка на процеса хидролиза и за стойността на реално наблюдавана скоростна константа на хидролиза (k_{obs}) в тези среди за целия период на изследването не може да бъде направено. Двата полимера в гелните системи освен като лекарствени носители, те могат да бъдат разгледани и като участници във фазовото разпределение на активното вещество. Включването на Diltiazem в полимерните носители не стабилизира лекарствената молекула.

Приносителите в докторската работа на ас. Иванова са с научно-теоретичен и потенциален приложен характер.

Наукометрия

Докторантката Иванова напълно отговаря на изискванията на Правилника за развитие на академичния състав в МУ-Варна.

Научните публикации свързани с докторската работа са три. Едната публикация е в много сериозно списание – *Talanta*, Elsevier BV с **IF 4.916**. Другите две са в реферирани научни списания.

Авторефератът напълно покрива дисертационния труд.

Докторската работа е много добре структурирана, написана и онагледена. Изследването за хидролитичната стабилност би могло да е по-обширно, да следва класиката за охарактеризиране хидролизата на химични структури и да е с ясно описан *HPLC* метод. Изписаната библиография няма порядък и е невъзможно да се коментира.

Тези бележки в никакъв случай не поставят под съмнение извършеното положително от докторантката.

Заключение

Това е една много сериозна разработка в областта на новосинтезирани полимерни матрични системи с Diltiazem, тяхното фармако-аналитично (структурно и функционално) охарактеризиране, разработване и валидиране на иновативен QCM метод за количествено определяне на лекарствената молекула в полимерните системи, потенциалната им приложимост като лекарство-доставни системи в терапията на аналните фисури и прилагане на *HPLC* метод за изследване хидролитичната стабилност на лекарствената субстанция и получените полимерни матрични системи.

Характерът на научните приноси е обогатяване на съществуващите знания и потенциалното приложение на тези научни постижения в практиката.

Предлагам да се присъди образователната и научна степен "Доктор" на ас., маг.фарм. Надежда Антонова Иванова.

Оценката ми е убедено ПОЛОЖИТЕЛНА.

19.06.2020.

Рецензент:



(проф. Пейков, дф)