

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Данка Петрова Обрешкова, дм, дфн
специалист Анализ на лекарствените продукти, токсикология,
клинична фармация.

НОВИ АСПЕКТИ В АНАЛИЗА НА *DILTIAZEM* БАЗИРАНИ ПОЛИМЕРНИ ЛЕКАРСТВО-ДОСТАВНИ СИСТЕМИ

Дисертационен труд за присъждане образователна и научна степен
„Доктор“

на маг.фарм. Надежда Антонова Иванова

Област на висше образование: 7. Здравеопазване и спорт.
Професионално направление: 7.3.Фармация. Научна специалност:
Фармацевтична химия.

Научни ръководители: Проф. Милен Венциславов Димитров, д.ф.

Доц. Илиян Николов Колев, д.х.

Медицински университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“

Дисертационният труд обхваща 134 страници, 52 фигури и 13 таблици.
Дисертационният труд включва 5 приложения. Цитирани са 190 заглавия, от които 46 от последните 5 години. Представените материали са разположени както следва: 2стр. съдържание, 2 стр. съкращения, 1стр.въведение, 30 стр. литературен обзор, 1стр.цел и задачи, 19 стр. литературен обзор, 19 стр. материали и методи, 39 стр. резултати и обсъждане, 1стр. изводи, 1 стр.з заключение, 1стр. приноси, 1 стр. списък на публикации във връзка с дисертационния труд, 3 стр. приложения, 17 стр. библиография.

Литературният обзор е извършен от докторантката прецизно и коректно. Включва разглеждане на проблема свързан с включване на лекарствени вещества в полимерно - доставни системи и техния анализ.

Считам за удачен изборът на обекта на изследване – добре познатото лекарствено вещество *Diltiazem hydrochloride* (блоккер на бавните Ca^{2+} канали), но в комбинация с новосинтезирани негови *Eudragit RS 100*-базирани лекарстводоставящи носители от *microsponge*-тип. По настоящем възниква необходимостта от разработване на нови модерни, високочувствителни аналитични методи и подходи при охарактеризиране на авангардните лекарствени форми и комбинации. Така се гарантира качеството на лекарствения продукт. Особено важна задача се явява компетентния избор на подходящ технологичен и аналитичен подход и критерии.

От направения литературен обзор се очертават предпоставките за избора на обекта на изследването, поради някои характеристики на включване в носителите, стабилността и сорбционното му поведение. Методът на QCM, който понастоящем не широко застъпен намира във фармацевтичния анализ, но има неоспорими свойства за реализирането на висока чувствителност и селективност в анализа на този тип комплексни и хетерогенни системи. Изследването на IR спектралните характеристики са задължително условие за охарактеризирането на аналитичния обект, а ATR метода, хвърля светлина върху по-важните характеристики и взаимодействия, възникващи на междумолекулно ниво в лекарстводоставящите системи. Потърсена е подходяща лекарствена форма на *Diltiazem* за доказване на удовлетворителна лекарствена стабилност и функционалност на продукта.

Подробно и изчерпателно са изяснени свойствата на *Diltiazem*, структурни и стереохимични характеристики, известни методи за анализ, стабилност и фармакологични и фармакокинетични характеристики, метаболизъм.

Особен интерес представлява QCM подробно описания метод, в чиято основа е кварцово кристален резонатор – модерен аналитичен метод с изключителни възможности.

Целта и задачите са коректно поставени и определени от докторантката, като акцентът пада върху охарактеризиране на новосинтезирани полимерни матрични системи с *Diltiazem* и проучване на бъдещи възможности за приложението им като лекарстводоставящи системи. Произтичащите от целта задачи са поставени ясно и конкретно.

В раздел Материали и методи прецизно са описани качествените характеристики на използваните реактиви и активни субстанции, характеристиките на ползваната за решаване на задачите апаратура, както и е направено описание на прилаганите методи.

Като продуктивен работещ метод за получаването на *Diltiazem*-натоварени полимерни (*Ammonio Metacrylate Copolymer Type B*) лекарстводоставящи носители от *microsp sponge*-тип е ползван синтез на полимерни микросфери с *microsp sponge*-тип морфология. Осъществена е трансформацията на на *Diltiazem* база от *Diltiazem hydrochloride* за провеждане на експеримента. Проведен е UV-vis аналитичен контрол.

Интересен и модерен се явява методът на преформулация с помощта на който е проследено: ефектът на три вариабилни фактора на синтеза – съотношение лекарство към: полимер, обем на вътрешната органична фаза и концентрация на повърхностно-активен агент и повлияването върху добива, ефикасността на натоварване на *Diltiazem* частици и техния размер, оценено посредством факториален дизайн (2^3 FD).

Особен интерес представлява определянето на съдържанието на *Diltiazem* в матрични системи от *Eudragit RS* посредством QCM-метод. В дисертационния труд е направен опит да се въведе метода на кварцово-кристалната микровезна (QCM) във фармацевтичния анализ. Методът е пригоден да анализира количествено лекарствени съединения (с базични свойства) в полимерно обкръжение (от *Ammonio Metacrylate Copolymer Type B - Eudragit RS*) и се явява перспектива за въвеждането му във фармацевтичния анализ. Налице е подробно описание на аналитичния подход и начина на приготвяне на работните разтвори. Извършен е UV-vis и статистически анализ и валидиране на QCM метода за количествено определяне на *Diltiazem* в матрични системи от *Eudragit*. Статистически анализ и валидиране на QCM метода за количествено определяне на *Diltiazem* в матрични системи от *Eudragit RS* статистически анализ и валидиране на QCM метода за количествено определяне на *Diltiazem* в матрични системи от *Eudragit RS*.

Определен интерес представляват *In vitro* и *ex vivo* изследвания за прогнозиране на терапевтичния потенциал на *Diltiazem*-натоварени *Eudragit RS microsphere*-тип частици, както и обратното превръщане на *Diltiazem* база в хидрохлорид в структурата на лекарство-натоварените *Eudragit RS microsphere* частици. Подробното описание на подготовката на експерименталните разтвори и постановки, както и хода на самия експеримент е направено с особена прецизност и дава възможност за възпроизвеждане. Методите са валидирани.

В РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ се доказва разтворимостта и спектрално поведение на *Diltiazem hydrochloride* и *Diltiazem* база чрез ползваните за целта оптимални аналитични подходи и тяхното охарактеризиране. Представените фигури и таблици дават убедителни доказателства относно охарактеризиране

на *Diltiazem* в състава на полимерни матрици от *Ammonio Metacrylate Copolymer Type B (Eudragit RS)*, някои основни морфологични и функционални характеристики на синтезираните *microsponge* частици, както и детайлни техни структурни особености. Акцентира се е върху изследването на степента на навлизане и взаимодействие на *Diltiazem* с полимерните вериги на *Eudragit RS*, морфология, добив и лекарствено натоварване с *Diltiazem* на полимерни микрочастици от *microsponge*-тип.

Показаните SEM микрографии доказват сферичност и оптимални стойности на съотношението лекарство към полимер, обем на дихлорометан и концентрация на поливинилов алкохол. Същите състави демонстрират висок добив и процент на захващане на лекарственото вещество.

Постигнати са целите на преформулацията, сведени до намирането на статистически оптимум в стойностите на независимите променливи (X_1 , X_2 и X_3) за постигането на максимално високи добив и натоварване и възможно най-малък размер на частиците.

Извършено е наблюдение върху влиянието на независимите променливи върху добива на *Diltiazem*-натоварени *Eudragit RS 100* микрочастици.

Най-съществено влияние оказва концентрацията на поливинилов алкохол във водната фаза , с намаляването на която добива се увеличава. При високи стойности на състави с ниско полимерно участие се наблюдава увеличение в процента на загубите и респективно спад в добива. С увеличаване на концентрацията на поливинилов алкохол , вискозитетът на външната фаза расте зависят обратно пропорционално от вискозитета на средата. Доказва се, че забавянето на дифузионния поток се свързва с ограничена миграция на *Diltiazem* във водната среда и следователно по-висока степен на захващане в частиците. В зависимост от това колко стойността на C_{PVA} се доближава до

оптималната за състав със зададени параметри се проявява преимуществено положителен или отрицателен ефект, който се доближава до оптималната за състава стойност и ще прояви преимуществено своя положителен или отрицателен ефект върху лекарственото натоварване.

Емпиричен оптимум за постигане на таргетираната структура с максимални стойности за добив и лекарствено натоварване е установен при съотношение лекарство към полимер 1:3 (0.33), обем на дихлорометан и концентрация на поливинилов алкохол във водната фаза.

Извършеният DCS демонстрира термограми, на които ясно се виждат ендотермични пикове при 103.8°C за *Diltiazem* база и при 214.5°C за *Diltiazem hydrochloride*, както и деструкция на субстанциите при определена температура. При използване на модерна апаратура е проведен и FT-IR анализ на *Diltiazem*-натоварени *Eudragit RS microsponge*-тип частици и други дисперсии от *Diltiazem* и *Eudragit RS*. Наблюденията върху нисколежащата субзона в разглеждания участък от спектъра – 1690-1660 cm⁻¹ показват проявата на нова абсорбционна ивица с максимум при 1684 cm⁻¹ при всички видове лекарство-полимерни смеси. Получените резултати потвърждават работната хипотеза за механизъм на взаимодействие на *Diltiazem* и *Eudragit RS*

В случаите на лекарство-натоварените проби, разликата в изходната и крайната честотата на трептене на резонатора е тълкувана изцяло като следствие от необратима хемисорбция на *HCl* с пробите и преизчислена като лекарствено съдържимо.

Разработените аналитични методи са валидирани и се очаква да намерят практическо приложение в аналитичната практика като напр. QCM метода за количествено определяне на *Eudragit* и *Diltiazem* в проби от *Diltiazem*-натоварени *RS microsponge* частици.

Поведеният експеримент с QCM цели да се открие недеструктивен метод за установяване на лекарствено съдържание в синтезираните *Diltiazem*-натоварени лекарстводоставящи частици. В тази връзка са разработени четири варианта.

Извършени са и *In vitro* и *ex vivo* изследвания за прогнозиране на терапевтичния потенциал на *Diltiazem*-натоварени *Eudragit RS microsponge*-тип частици. Заключението, което може да се направи от получените резултати е, че използването на *Diltiazem*-натоварени *microsponge* частици като лекарстводоставящи единици в ректалните хидрогели води до удължаване на лекарственото освобождаване, забавяне на мукозната пермеация и респективно потенциалната системна абсорбция на *Diltiazem* и потенциране на лекарственото задържане в прицелната тъкан – ректалната мукоза.

Направените в дисертационния труд изводи напълно кореспондират с проведения експеримент, с резултатите и коректното им обсъждане. Считаю, че основните **приноси** са основателно обобщени в описаните заключения, а именно: извършено въвеждане на *Diltiazem hydrochloride* в структурата на полимерни *microsponge* лекарстводоставящи системи като база, която в последствие се трансформира в хидрохлоридна сол, чрез факториален дизайн се установява връзка между основните променливи в предложения метод за синтез, като процеса успешно се демонстрира посредством ATR-FTIR, SEM-EDX и DSC анализ, оптимизирани състави от лекарство-натоварените *microsponge* частици демонстрират висок сорбционен капацитет, осъществен е синтезът на статистически и емпирично оптимизирани състави от *Diltiazem*-натоварени *microsponge* лекарстводоставящи системи с желаната морфология и функционално разкриват потенциала на този тип лекарстводоставящи системи в хидрогелни лекарствени форми за локално лечение на *fissura ani*.

Въвеждането на *Diltiazem* в състава на полимерните носители **не** демонстрира очаквания структурно-стабилизиращ ефект, което също намирам за съществен принос на работата. Както вече отбелязах приложените аналитични методи са валидирани и сравнението между тях показва, че QCM метод за количествен анализ на *Diltiazem* в състава показва много по-високи нива на точност и прецизност от тези на UV-Vis спектрален метод. Проведените *in vitro* и *ex vivo* изследвания върху *microspunge*-потенцирани хидрогели очертават перспектива за прилагането на този тип лекарстводоставящи системи в хидрогелни лекарствени форми за локално лечение на *fissura ani*.

Разработените аналитични методи: QCM, UV-Vis, спектрален метод, FT-IR, SEM-EDX и DSC притежават високи нива на точност, прецизност и селективност в количествения анализ. Получените резултати с *Diltiazem microspunge* структури доказват хомогенното (молекулно) диспергиране на лекарственото вещество в полимерната матрица. Десорбционно поведение на полимерната матрица спрямо *Diltiazem* показва добра корелация и висока степен на дисперсност.

В своята цялост настоящата докторска работа представлява завършен труд и както вече беше отбелязано избраната тема е актуална, свързана с изучаването на модерни лекарствени форми и тяхното поведение и възможности за подобряване на качествения им контрол и фармакологична активност.

По отношение на наукометричните показатели, докторантката напълно покрива критериите за докторска работа като особено добро впечатление прави публикацията ѝ в сп. *Talanta*. Представени са още две работи в реферирани научни списания.

Намирам представения дисертационен труд изключително интересен в научната област на фармацевтичния анализ и технологията на лекарствените форми и представен с иновативен подход

В заключение, предлагам на почитаемото научно жури да присъди научната-образователна степен „Доктор“ на магистър- фармацевт Надежда Иванова в научно направление „Фармация“, докторска програма “ Фармацевтична химия“.

25.06.2020

Рецензент:



/Проф. д-р Данка Обрешкова, дфн/