

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU FARMACEUTSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nastavno-naučnog veća Farmaceutskog fakulteta, održanoj 09.06.2015. godine, imenovana je komisija u sastavu:

1. Dr Katarina Nikolić, docent, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, mentor
2. Dr Danica Agbaba, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, mentor
3. Dr Milan Antonijević, Principal Lecturer in Pharmaceutical Analysis, Medway School of Pharmacy, University of Greenwich, Chatham, United Kingdom
4. Dr Vjera Pejanović, naučni savetnik, Hemofarm A.D. Vršac

za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije pod nazivom „**Karakterizacija i procena kritičnih parametara stabilnosti tableta olanzapina i aripiprazola primenom eksperimentalnog dizajna**“, kandidata diplomiranog farmaceuta Nataše Đorđević Filijović, šefa Odeljenja stabilnosti u Hemofarmu A.D. Članovi Komisije su pregledali priloženu disertaciju i podnose Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu sledeći

IZVEŠTAJ

1. Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija diplomiranog farmaceuta Nataše Đorđević Filijović pod nazivom „**Karakterizacija i procena kritičnih parametara stabilnosti tableta olanzapina i aripiprazola primenom eksperimentalnog dizajna**“ napisana je na 165 strana kucanog teksta formata A4, proreda 1,5 i fonta Times New Roman (veličina 12). Sastoji se od sledećih celina: 1. Uvod, 2. Cilj rada, 3. Eksperimentalni deo, 4. Rezultati i diskusija, 5. Zaključak, 6. Literatura, 7. Prilozi, 8. Biografija. Disertacija sadrži 38 slika, 42 tabele i 185 literaturnih navoda.

2. Opis postignutih rezultata

U ovoj doktorskoj disertaciji izvršena je identifikacija i karakterizacija kritičnih parametara stabilnosti tableta olanzapina i aripiprazola. Sprovedeno je ispitivanje hemijske i fizičke kompatibilnosti olanzapina i različitih pomoćnih supstanci formulacije tableta primenom više komplementarnih metoda. Izvršeno je izolovanje i karakterizacija dva degradaciona proizvoda olanzapina nastalih procesom oksidacije. Takođe, razvijena je nova metoda tačne hromatografije pod visokim pritiskom za farmaceutsku analizu aripiprazola i njegovih nečistoća. Izvršena je statistička procena i optimizacija hromatografskog ponašanja navedenih supstanci primenom eksperimentalnog dizajna tj. centralnog kompozitnog dizajna i metode površine odgovora. Takođe, ispitan je kvantitativan odnos strukture i retencije ispitivanih jedinjenja u HPLC sistemu i razvijen odgovarajući QSRR (engl. *Quantitative Structure Retention Relationship*) model koji je omogućio da se na adekvatan način definišu procesi razdvajanja u analiziranom sistemu. Deo ispitivanja obuhvatio je i studije stabilnosti tableta olanzapina i aripiprazola pod stres i uslovima koje zahtevaju regulatorni organi (ICH).

Rezultati disertacije izloženi su u posebnom poglavlju za svaku aktivnu supstancu i sadrže tri, odnosno pet celina.

U prvom poglavlju je opisana studija kompatibilnosti olanzapina sa odabranim pomoćnim supstancama formulacije tableta. Za preliminarne eksperimente korišćene su pomoćne supstance prototip formulacija od kojih su izdvojene one koje mogu uticati na fizičko-hemijsku nestabilnost aktivne supstance. U narednim eksperimentima sprovedena su detaljna ispitivanja pomoćnih supstanci za koje je utvrđeno da utiču na stabilnost. Posebna pažnja posvećena je razjašnjavanju fenomena u kojima učestvuje voda. Primenom metode tačne hromatografije pod visokim pritiskom (HPLC) analiziran je sadržaj nečistoća olanzapina, odnosno praćena je hemijska kompatibilnost. Razumevanju interakcija doprinele su i tehnike termalne analize, diferencijalno skenirajuća kalorimetrija (DSC) i termogravimetrijska analiza (TGA). Fizičke promene, odnosno promene polimorfnog oblika olanzapina, praćene su difrakcijom x-zraka supstance u čvrstom stanju (PXRD). U narednom koraku primenjene su studije forsirane degradacije i izvršena je karakterizacija degradacionih proizvoda. Strukture nepoznatih nečistoća nastalih oksidativnom degradacijom identifikovane su metodom tačne hromatografije spregnute sa masenom

spektrometrijom (HPLC/MS). Dodatno, smeša degradacionih proizvoda ispitivanih jedinjenja izolovana je je primenom preparativne HPLC tehnike, a njihova struktura okarakterisana i potvrđena IR i NMR analizama.

U drugom poglavlju prikazan je razvoj HPLC metode za analizu aripiprazola i njegovih nečistoća, kao i ispitivanje njihovog hromatografskog ponašanja. Na osnovu preliminarnih eksperimenata identifikovani su parametri koji imaju najveći uticaj na retenciono ponašanje ispitivanih supstanci. Za optimizaciju HPLC metode odabrana su četiri faktora: temperatura kolone, pH vrednost vodene faze, koncentracija KH_2PO_4 i koncentracija natrijum-pentansulfonata (Na-PS). Uticaj značajnih faktora detaljnije je ispitan u procesu optimizacije primenom centralnog kompozitnog dizajna (CCD), dok su manje značajni faktori održavani na konstantnom nivou. Osim toga, tokom procesa optimizacije primenjene su i funkcija hromatografskog odgovora (CRF) i hromatografska eksponencijalna funkcija (CEF).

U sledećoj fazi izvršeno je QSRR modelovanje, odnosno ispitivanje kvantitativnog odnosa između hemijske strukture aripiprazola i njegovih devet nečistoća, kao nezavisno promenljivih i njihove retencije u HPLC sistemu, kao zavisno promenljivih. Za kreiranje modela korišćena je regresiona analiza metodom delimičnih najmanjih kvadrata (PLS). Validacija modela izvršena je primenom tehnike ukrštene validacije metodom izostavi jedan podatak (LOO-CV). Formiran QSRR model primenjen je za predviđanje hromatografskog ponašanja drugih strukturno sličnih jedinjenja.

U narednom koraku sprovedena je validacija razvijene HPLC metode za analizu aripiprazola i njegovih nečistoća u skladu sa regulatornim zahtevima. Metoda je primenjena za analizu nečistoća aripiprazola u sirovini i tabletama.

Na kraju prvog i drugog poglavlja izvršena je procena kritičnih parametara stabilnosti tableta olanzapina i aripirazola. U okviru preliminarnih studija stabilnosti, primenom stres metode ispitan je uticaj temperature i vlage na stabilnost tableta. Za potrebe odabira formulacije, kao kritičan parametar praćen je sadržaj nečistoća. Dodatno, na osnovu podataka o temperaturnoj zavisnosti degradacije, primenom Arenijusove jednačine, izvršena je procena preliminarnog roka upotrebe ispitivanih tableta. Sadržaj nečistoća analiziran je primenom HPLC metode pogodne za praćenje stabilnosti. U narednom koraku sprovedene su studije stabilnosti na pilot, odnosno proizvodnim serijama u skladu sa

odgovarajućim ICH smernicama. Na osnovu ovih rezultata definisani su način čuvanja i rok upotrebe novorazvijenih proizvoda.

3. Uporedna analiza rezultata doktorske disertacije sa podacima iz literature

Olanzapin (2-metil-4-(4-metil-1-piperazinil)-10*H*-tieno [2, 3-*b*] [1, 5] benzodiazepin) i aripiprazol (7-[4-[4-(2, 3-dihlorofenil) piperazin-1-il] butoksi]-3, 4-dihidro-1*H*-hinolin-2-on) su atipični antipsihotici ili antipsihotici druge generacije. Koriste se u terapiji shizofrenije, shizoafektivnih poremećaja, maničnih faza bipolarnih afektivnih poremećaja (manično - depresivnih psihoza), kao i drugih agitiranih psihoza [1-3].

U dostupnoj naučnoj literaturi publikovani su novi putevi sinteze olanzapina, zatim razvoj metoda za određivanje njegovog sadržaja, kao i metoda za izolaciju i karakterizaciju njegovih degradacionih proizvoda [4-7]. Osim toga, identifikovane su i izolovane njegove procesne i degradacione nečistoće u aktivnoj supstanci i farmaceutskim formulacijama [8-11], a opisano je i termoanalitičko ispitivanje kompatibilnosti sa pomoćnim supstancama koje ulaze u sastav čvrstih doziranih oblika [12]. Struktura nečistoća olanzapina određena je primenom različitih spektroskopskih metoda: IR [4,5,10], FTIR [6,8], NMR [4-6,8,10-11], LC-MS ili LC-MS-MS [5,6,8,10,11] i primenom kristalografije [7,10,12]. Za analizu olanzapina i njegovih nečistoća razvijene su i validirane RP-HPLC [8] i UPLC [9] metode.

Potencijalne fizičko-hemijske interakcije između aktivnih i pomoćnih supstanci mogu uticati na stabilnost i bioraspoloživost farmaceutskih proizvoda, a time i njihovu efikasnost i bezbednost [13, 14]. Usled promenljivih faktora koji se odnose na strukture aktivnih supstanci i formulaciju, ovo ispitivanje je predmet konstantnog istraživanja. Iako publikovani rezultati pokazuju da su interakcije između olanzapina i pomoćnih supstanci tabletnih formulacija moguće, tačan mehanizam ovih interakcija i uslovi koji do njih dovode nisu u potpunosti razjašnjeni. U ovom istraživanju je izvršeno ispitivanje kompatibilnosti olanzapina sa odabranim ekscipijensima formulacije tableta, što je omogućilo formulisanje stabilnog gotovog proizvoda. Komplementarna primena visoko efikasne tačne hromatografije (HPLC), termogravimetrijske analize (TGA), diferencijalno skenirajuće kalorimetrije (DSC) i difrakcije x-zraka supstance u čvrstom stanju (PXRD) doprinela je razumevanju kako hemijskih, tako i fizičkih interakcija. Rezultati su pokazali

da fizičko-hemijska stabilnost olanzapina u smešama zavisi od higroskopnosti sredstva za dopunjavanje, veličine čestica i aktivnosti vode u uzorku. U slučaju anhidrovane laktoze povećana reaktivnost se može objasniti nepravilnostima u kristalnoj rešetki, koje dovode do veće pokretljivosti molekula, ili plastifikacijom malih amorfnih (neuređenih) regija. Takođe, aktivnost vode u anhidrovanom obliku je veća zbog toga što taj oblik teži da pređe u monohidrat, koji je termodinamički stabilniji.

Karakterizacija nepoznatih nečistoća je ključna u proceni kvaliteta, efikasnosti i bezbednosti leka, s obzirom da nečistoće mogu uticati na farmakološki i toksikološki profil gotovog proizvoda. Ovo je posebno značajno kod degradacionih proizvoda aktivnih supstanci čija koncentracija tokom roka upotrebe leka raste. S obzirom da je olanzapin podložan oksidaciji u kojoj zavisno od reakcionih uslova i osobina prisutnih pomoćnih supstanci mogu nastati različiti degradacioni proizvodi [6, 10, 11], karakterizacija njegovih nečistoća, potencijalnih i stvarnih degradacionih proizvoda, je veoma značajna. Strukture nepoznatih nečistoća olanzapina u ispitivanoj formulaciji tableta (RRT 0,64 i RRT 1,35), koje nastaju u uslovima oksidativne degradacije, identifikovane su tehnikama HPLC-MS, kao IR i NMR metodama.

U naučnoj literaturi nema dovoljno podataka o kompatibilnosti aripiprazola i pomoćnih supstanci, kao ni podataka o stabilnosti njegovih tabletnih formulacija. Opisano je određivanje sadržaja iz različitih vrsta uzoraka spektrofotometrijski [15,16] i elektro-hemijskim metodama [17]. Većina RP-HPLC metoda sa UV detekcijom odnosi se na određivanje sadržaja aripiprazola u prisustvu njegovih degradacionih nečistoća generisanih forsiranom degradacijom [18-21]. Mali broj metoda opisuje razdvajanje i istovremeno određivanje sadržaja aripiprazola i njegovih nečistoća HPLC-UV metodom [22,23] ili identifikaciju njegovih degradacionih proizvoda u tabletama LC-QToF-MS [24]. Nijedna publikovana metoda ne opisuje određivanje sadržaja devet nečistoća aripiprazola u sirovini i farmaceutskim oblicima. Iz toga razloga je razvijena HPLC metoda sa UV detekcijom koja je omogućila razdvajanje i određivanje ove kompleksne smeše jedinjenja različite polarnosti u jednom sistemu. Validacijom je potvrđeno da metoda ispunjava zadate analitičke kriterijume i da se može primeniti u rutinskoj farmaceutskoj analizi aktivne sirovine, proceni kvaliteta aktivne sirovine različitih proizvođača, kao i analizi tableta koje sadrže aripiprazol.

Profil nečistoća u farmaceutskim proizvodima često je kritičan parametar kvaliteta. Tečna hromatografija pod visokim pritiskom (HPLC) predstavlja metodu izbora za analizu nečistoća i degradacionih proizvoda u aktivnim supstancama i gotovim proizvodima. Na razdvajanje i određivanje komponenata u ovakvim sistemima utiče veliki broj eksperimentalnih faktora. Primenom centralnog kompozitnog dizajna su određeni eksperimentalni uslovi sa najvećim uticajem na retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja u HPLC sistemu. Uslovi za maksimalnu rezoluciju kritičnih parova pikova (R_s 4/5, R_s 5/6 i R_s 9/10) definisani su primenom regresione analize metodom delimičnih najmanjih kvadrata (PLS) i primenom metode površine odgovora. Na osnovu dobijenih rezultata izračunate su funkcija hromatografskog odgovora (CRF) i hromatografska eksponencijalna funkcija (CEF), koje su potvrdile odabrane optimalne eksperimentalne uslove.

Osnovni cilj QSRR istraživanja je da se na osnovu strukture molekula predvide njihovi retencioni parametri, na primer retenciono vreme (t_R), kao i da se na osnovu retencionih podataka predvide određena fizička svojstva molekula [25, 26]. Za formiranje QSRR modela, mogu se primeniti različite matematičke metode: višestruka linearna regresija (MLR), metoda delimičnih najmanjih kvadrata (PLS), analiza glavnih komponenti (PCA) i dr. U ovom istraživanju QSRR modelovanje aripiprazola i njegovih devet nečistoća izvršeno je primenom PLS regresije. Retenciona vremena (t_R) aripiprazola i njegovih nečistoća dobijena primenom razvijene HPLC metode korišćena su kao zavisno promenljive, dok su izračunate vrednosti za 21 molekulski parametar ispitivanih jedinjenja korišćene kao nezavisno promenljive [27]. Kao najznačajniji izabrani su sledeći deskriptori: Connolly molekulski površina (MS), koeficijent raspodele ($\log D_{pH3.0}$), broj akceptora vodonične veze (HBA) i broj donora vodonične veze (HBD). Statistički parametri QSRR modela pokazali su dobru sposobnost predviđanja. Takođe, primenjen test permutacije odgovora pokazao je da je razvijen dobar model ($R^2 < 0,4$ i $Q^2 < 0,05$). Razvijen QSRR model je iskorišćen za predviđanje t_R za tri dodatne nečistoće aripiprazola. Izračunata RMSEP vrednost test seta jedinjenja odgovara opsegu RMSEE vrednosti trening seta jedinjenja. Optimalna vrednost za RMSEE/RMSEP odnos potvrdila je dobar kvalitet razvijenog QSRR modela [28-30].

U literaturi nema podataka koji se odnose na procenu kritičnih parametara stabilnosti tableta sa olanzapinom i aripiprazolom. U okviru preliminarnih studija stabilnosti, na osnovu rezultata stres ispitivanja, izvršen je odabir formulacije tableta olanzapina i aripiprazola i njihove kontaktne ambalaže. Dodatno, rezultati ovih studija omogućili su da

se primenom Arenijusovog matematičkog modela predvidi ponašanje proizvoda pri nižim temperaturama u dužem vremenskom periodu. Na osnovu studija stabilnosti pilot i proizvodnih serija definisan je način čuvanja i rok upotrebe novo razvijenih proizvoda.

Citirana relevantna literatura:

- [1] AHFS Drug Information, American Society of Health-System Pharmacists Bethesda, USA. 2008.
- [2] B.G. Katzung, Basic & Clinical Pharmacology, Antipsychotic agents & Litium, Lange Medical Books/McGraw-Hill, San Francisco, USA, 2004.
- [3] Hirose T., Kikuchi T., 2005. Aripiprazole, a novel antipsychotic agent: dopamine D2 receptor partial agonist. J Med Invest. Nov;52 Suppl:284-90.
- [4] Sekhar, C.B.V.V.N., Kumar, R.N., Chakravarthy, A. , Mukkanti, K., 2011. Novel synthetic approaches for the synthesis of antipsychotic drug olanzapine. Int. J. Pharm. Bio. Sci. 2, 426-432.
- [5] Thatipalli, P., Kumar, R., Bulusu, C., Chakka, R., Pati, P.R., Yerra A, A., Bollikonda, S., 2008. Synthesis and characterisation of impurities of an anti-psychotic drug substance, Olanzapine. ARKIVOC xi 195-201.
- [6] Hiriyanna, S.G., Basavaiah, K., Goud, P.S.K., Dhayanithi, V., Raju, K., Pati, H.N., 2008. Identification and characterization of olanzapine degradation products under oxidative stress conditions, Acta Chromatographica 20, 81-93.
- [7] Cui, D., Li, Y., Lian, M., Yang, F., Meng, O., 2011. Development of a simple and stability indicating RP-HPLC method for determining olanzapine and related impurities generated in the preparative process, Analyst 136, 3149-3156.
- [8] Rao, R.N., Raju, A.N., Narsimha, R., Babu, G.R., 2008. Isolation and characterization of process related impurities of olanzapine using HPLC and ESI-MS/MS, J. Sep. Sci. 31, 107-118.
- [9] Krishnaiah, Ch., Murphy, M.V., Kumar, R., Mukkanti, K., 2011. Development of a stability indicating UPLC method for determining olanzapine and its associated degradation products present in active pharmaceutical ingredients and pharmaceutical dosage forms, J. Pharm. Biomed. Anal. 54, 667-673.
- [10] Baertschi, S.W., Brunner, H., Bunnell, A.C., Cooke, G.G., Diseroad, B., Dorman, D.E., Jansen, P.J., Kemp, C.A.J., Maple, S.R., McCune, K.A., Speakman, J.L., 2008. Isolation, identification, and synthesis of two oxidative degradation products of olanzapine (LY170053) in solid oral formulations, J. Pharm. Sci. 97, 883–892.

- [11] Rao, P.S., Ray, U.K., Hiriyanna, S.G., Rao, S.V., Sharma, H.K., Handa, V.K., Mukkanti K., 2011. Identification of oxidative degradation impurities of olanzapine drug substance as well as drug product, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 56, 413-418.
- [12] Peres-Filho, M.J., Gaeti, M.P.N., de Oliveira, S.R., Marreto, R.N., Lima. E.M., 2011. *J. Therm. Anal. Calorim.* 104, 255-260.
- [13] S.S. Bharate, S.B. Bharate, and A.N. Bajaj, Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. *J. Excipients and Food Chem.* 1 (3), 2010.
- [14] A.S: Narang, D. Desai and S. Badawy, Impact of excipient interactions on solid dosage form stability. *Pharm Res* 29:2660-2683, 2012.
- [15] Patle, H.S., Chandewar, A.V., Kshirsagar, M.D., *Int.J.Curr.Pharm.Res.*, 2011, 3,59-61
- [16] Kalaichelvi, R., Thangabalan, B., Srinivasa Rao, D., Jayachandran, E., *E-Journal of Chemistry*, 2009, 6, S87-S90
- [17] Asangil, D., Tasdemir, H.I., Kılıc, E., *Journal of Pharmaceutical Analysis* 2012, 2, 193–199
- [18] Dedania, Z.R., Dedania, R., Sheth, N., Gajra, B., Patel, J., *Asian J Pharm Biol Res*, 2011,123-8.
- [19] Raveendra Babu, G., Srinivasa Rao, J., Suresh Kumar, K., Jayachandra Reddy, P., *Asian J. Pharm. Ana.*, 2011,1, 03-07.
- [20] Bhanotu, B., Srinath, P., Kedarnath, J., *Int.J. Chem.Tech Res.*, 2012, 4, 124-8.
- [21] Nerkar, P., Gide, P., Chitnis, A., Mahajan, H., Gattani, S., *IJPSN*, 2009, 2, 572-581.
- [22] Srinivas, K.S.V., Buchireddy, R., Madhusudhan, G., Mukkanti, K., Srinivasulu, P., *Chromatographia*, 2008, 68, 635-640.
- [23] Pai, N.R., Dubhashi, D.S., *Der Pharmacia Lettre*, 2010, 2, 1-10.
- [24] Reddy, G.V.R., Kumar, A.P., Reddy, B.V., Kumar, P., Gauttam, H.D., *Eur. J. Chem.*, 2010, 1, 20-27.
- [25] Heberger, K., Quantitative structure-(chromatographic) retention relationships, *J. Chromatogr. A* 2007, 1158: 273-305.
- [26] Kaliszan R., Quantitative Structure-Retention Relationships (QSRR) in Chromatography III (2000) 4063-4075.
- [27] Todeschini R., Consonni V., *Handbook of Molecular Descriptors: Methods and Principles in Medicinal chemistry* 2000, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

- [28] Eriksson L., Johansson E., Kettaneh-Wold N., Trygg J., Wikstrom C., Wold S., Multi-and Megavariate Data Analysis. Basic Principles and Applications I, Second Ed. 2001, Umetrics Academy, Umeå, Sweden.
- [29] Eriksson L., Johansson E., Kettaneh-Wold N., Trygg J., Wikstrom C., Wold S., Design of Experiments, Principles and Applications, Third Ed. 2008, Umetrics Academy, Umeå, Sweden.
- [30] Tropsha A., Best practices for QSAR model development, validation, and exploitation. Mol. Inf. 2010, 29, 476-488.

4. Objavljeni i saopšteni rezultati koji čine sastavni deo doktorske disertacije

Radovi publikovani u međunarodnim časopisima

1. **Nataša Đorđević Filijović**, Aleksandar Pavlović, Katarina Nikolić, Danica Agbaba. Validation of an HPLC method for determination of Aripiprazole and its impurities in Pharmaceuticals. Acta Chromatographica DOI:10.1556/AChrom.26.2014.1.15. - (M23)
2. Katarina Nikolić, **Nataša Đorđević Filijović**, Borislava Maričić, Danica Agbaba. Development of a novel RP-HPLC method for the efficient separation of Aripiprazole and its nine impurities. Journal of Separation Science 2013, 36, 3165-3175. - (M22)
3. **Nataša Đorđević Filijović**, Milan D. Antonijević, Aleksandar Pavlović, Ivan Vučković, Katarina Nikolić, Danica Agbaba. The stress stability of olanzapine: studies of interactions with excipients in solid state pharmaceutical formulations. Drug Development and Industrial Pharmacy 2014, DOI: 10.3109/03639045.2014.884114. - (M23)

Saopštenja na međunarodnim naučnim skupovima štampana u izvodu (M34)

1. **Nataša Đorđević Filijović**, Aleksandar Pavlović, Danica Agbaba. Stress stability study of olanzapine in its dosage forms: Projection of drug product shelf-life. *16th European Conference on Analytical Chemistry, EUROanalysis 2011*, Beograd, 11-15. septembar 2011.

2. **Nataša Đorđević Filijović**, Borislava Maričić, Katarina Nikolić, Danica Agbaba. HPLC analysis of aripiprazole and its impurities. *The XXXVth Symposium "Chromatographic methods of investigating the organic compounds"*, Katowice-Szczyrk, May 30th – June 1st, 2012.
3. **Nataša Đorđević Filijović**, Katarina Nikolić, Borislava Maričić, Danica Agbaba. Primena eksperimentalnog dizajna u razvoju HPLC metode za analizu aripiprazola i njegovih nečistoća. *VI Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem*, Beograd, Srbija, 15-19. oktobar 2014.

5. **Obrazloženje naučnog doprinosa doktorske disertacije**

Prikazana istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji se uklapaju u savremene tokove i pristupe u razvoju novih farmaceutskih oblika i predstavljaju značajan doprinos hemiji i analizi ispitivanih supstanci. Ispitivanje kompatibilnosti olanzapina sa ekscipijensima tabletnih formulacija, primenom HPLC, DSC, TGA i PXRD metoda, doprinelo je razumevanju fizičko-hemijskih interakcija i uzroka koji do njih dovode. Njihov praktičan značaj ogleda se u tome što se pravilnim odabirom pomoćnih supstanci bitno skraćuje vreme potrebno za laboratorijska ispitivanja. Izvršena je karakterizacija struktura nepoznatih nečistoća olanzapina primenom HPLC-MS metode i tehnike preparativne HPLC udružene sa IR i NMR spektroskopijom. Pokazano je da pomoćne supstance u formulaciji tableta utiču na degradacione puteve hemijski nestabilnih aktivnih supstanci, čime određuju stabilnost farmaceutskog proizvoda.

Razvijena je jednostavna HPLC metoda sa UV detekcijom za razdvajanje i određivanje sadržaja devet organskih nečistoća i potencijalnih degradacionih proizvoda novog antipsihotika aripiprazola. Tokom razvoja i optimizacije metode primenjen je eksperimentalni dizajn što je omogućilo naučno razumevanje hromatografskog ponašanja ispitivanih supstanci. Dodatno, na taj način je značajno skraćen postupak dolaska do optimalnih hromatografskih uslova. Metoda se može koristiti za praćenje kvaliteta leka u svim fazama razvoja, od sinteze aktivne supstance do formulacije farmaceutskog preparata.

Uspostavljanjem kvantitativnog odnosa strukture i retencije omogućeno je da se na osnovu formiranih matematičkih modela brzim teoretskim proračunima odgovarajućih

molekulskih deskriptora na jednostavan način bliže objasne retencioni mehanizmi i identifikuju molekulske parametri koji najviše utiču na retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja. QSRR modelom je izvršeno predviđanje retencionog ponašanja tri dodatne organske nečistoće aripiprazola. Kako razvijeni QSRR model ima veliku moć predviđanja, može se koristiti za predviđanje ponašanja novih derivata aripiprazola koji nastaju primenom različitih reakcionih uslova za sintezu aripiprazola kod sve većeg broja generičkih lekova što bi predstavljalo brz i finansijski koristan pristup u budućim naučnim istraživanjima. Ovakav pristup bi mogao imati značajan uticaj na proces optimizacije postupka sinteze aktivne supstance i posledično dobijanje stabilnije formulacije leka. Ovo istraživanje predstavlja prvu QSRR analizu koja povezuje strukturu aripiprazola i njegovih devet nečistoća sa hromatografskom retencijom.

Imajući u vidu da će se razvijene metode za farmaceutsku analizu ispitivanih supstanci i njihovih nečistoća primeniti za procenu stabilnosti tabletnih formulacija, čime indirektno utiču na farmakoterapijski profil leka, kao i sve strožije regulatorne zahteve u pogledu stepena čistoće novih lekova, ovaj koncept razvoja metoda predstavlja veliki naučni doprinos.

6. Zaključak i predlog Komisije

Na osnovu izloženog može se zaključiti da rezultati kandidata diplomiranog farmaceuta Nataše Đorđević Filijović prikazani u ovoj doktorskoj disertaciji predstavljaju originalan i značajan naučni doprinos za oblast Farmaceutske hemije. Rezultati doktorske disertacije publikovani su u tri rada u međunarodnim časopisima, kao i u vidu tri saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu kategorije.

Uzimajući u obzir sve izloženo, Komisija u navedenom sastavu pozitivno ocenjuje doktorsku disertaciju diplomiranog farmaceuta Nataše Đorđević Filijović i predlaže Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta u Beogradu da prihvati ovaj Izveštaj i uputi ga Veću naučnih oblasti medicinskih nauka, radi dobijanja saglasnosti za javnu odbranu doktorske disertacije pod nazivom:

„Karakterizacija i procena kritičnih parametara stabilnosti tableta olanzapina i aripiprazola primenom eksperimentalnog dizajna“

1. _____
Dr sc. Katarina Nikolić, mentor, docent
Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet

2. _____
Dr sc. Danica Agbaba, mentor, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet

3. _____
Dr sc. Milan Antonijević, Principal Lecturer in
Pharmaceutical Analysis, Medway School of
Pharmacy, University of Greenwich, Chatham,
United Kingdom

4. _____
Dr sc. Vjera Pejanović, naučni savetnik
Hemofarm A.D. Vršac

U Beogradu, 24.06.2015. godine