

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр
экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 127051, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2
Тел.: (495) 625-43-48
E-mail: general@expmed.ru Сайт: <https://www.regmed.ru>

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
федерального государственного бюджетного
учреждения «Научный центр экспертизы
средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
В.В. Косенко
« 20 » апреля 2022 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Диссертация ГОЛОЩАПОВОЙ Евгении Олеговны на тему «Разработка фармакопейных стандартных образцов для подтверждения подлинности структуры субстанций интерферонов» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.6 – «Биотехнология (биологические науки)» выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ).

В период подготовки диссертации соискатель Голощাপова Евгения Олеговна работала экспертом 1-й категории в лаборатории биохимии Медицинских Иммунобиологических препаратов в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный центр экспертизы

средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ).

Голощапова Евгения Олеговна в 2011 г. окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», факультет биотехнологии и промышленной экологии, с присвоением квалификации инженер, по специальности «Биотехнология».

Голощапова Е.О. была прикреплена в качестве соискателя к Федеральному государственному бюджетному учреждению «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (приказ №280 от 19.12.2018 г).

Справка об обучении № 415 выдана 18.11.2019 г. Федеральным бюджетным учреждением науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научный руководитель:

- Устинникова Ольга Борисовна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория биохимии Медицинских Иммунобиологических препаратов, начальник лаборатории.

По итогам обсуждения диссертации Голощаповой Евгении Олеговны «Разработка фармакопейных стандартных образцов для подтверждения подлинности структуры субстанций интерферонов» **принято следующее заключение:**

Диссертация Голощаповой Евгении Олеговны является законченной научно-квалификационной работой, в которой представлены сведения и результаты разработки и аттестации фармакопейных стандартных образцов для подтверждения подлинности первичной структуры фармацевтических

субстанций интерферонов методом пептидного картирования. В связи с отсутствием международных стандартных образцов метиониновой формы интерферона альфа-2b и интерферона бета-1b разработанные фармакопейные стандартные образцы данных белков способствуют стандартизации показателя «Подлинность» и единообразию оценки качества субстанций, что способствует повышению эффективности и безопасности лекарственных средств, изготовленных на их основе.

Личное участие автора в получении результатов

Соискатель самостоятельно провела анализ международных и отечественных нормативных требований, а также требований нормативной документации производителей субстанций рЧИФН альфа, рЧИФН бета и рЧИФН гамма. Автор анализировала литературные данные в рамках темы исследования, разработала требования к кандидатам в фармакопейные стандартные образцы метиониновой формы рЧИФН альфа-2b и рЧИФН бета-1b, непосредственно принимала участие на всех этапах экспериментальной работы, разработала способ подтверждения структуры рекомбинантного интерферона бета-1b, осуществила статистическую обработку результатов.

Установление аттестованной характеристики ФСО 3.2.00433 (ОСО 42-28-433) осуществляли совместно с начальником отдела контроля качества К.Э. Хечиевой (ООО «Фармапарк»). Масс-спектрометрическое исследование кандидата в ФСО 3.2.00433 (ОСО 42-28-433) осуществляли совместно со с.н.с., к.ф.-м.н. А.С. Кононихиным (Центр коллективного пользования "Новые материалы и новые технологии", созданный на базе ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН). Оценку качества и масс-спектрометрическое исследование кандидата в ФСО 3.2.00447 (ОСО 42-28-447), установление его аттестованной характеристики осуществляли совместно со с.н.с. отдела аналитических методов М.Б. Дегтерёвым (АО «Генериум»).

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность результатов, полученных в ходе работы, обеспечивается значительным объемом проведенных исследований, применяемых для решения поставленных задач, и методов исследования, использованием корректного статистического анализа первичных данных.

Работа выполнена в рамках государственных заданий ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России на осуществление прикладных научных исследований и разработок в период с 2015 года по настоящее время при проведении следующих научно-исследовательских работ:

- Совершенствование системы разработки и применения СО, предназначенных для оценки качества, эффективности и безопасности лекарственных средств (№ госрегистрации 115111740007);
- Научное обоснование перспективных направлений совершенствования методологии экспертизы лекарственных средств (№ госрегистрации ГР АААА-А18-118021590049-0);
- Разработка перспективных направлений совершенствования экспертизы качества, эффективности и безопасности биологических лекарственных препаратов и стандартизация методов их оценки (№ госрегистрации 121022000147-4).

Апробация работы состоялась на заседании Ученого совета Федерального государственного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 1 от 22.03.2022 г.).

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на: третьей научно-практической конференции молодых ученых «Приоритетные направления развития экспертной деятельности в области обращения лекарственных средств» (Москва, 2014); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2020» (Москва, 2020); XXIX Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2022).

Научная новизна исследования

Разработаны требования к кандидату в ФСО метиониновой формы рЧИФН альфа-2b, включающие наиболее полную оценку качества субстанции производителем в соответствии с требованиями международных документов; форму выпуска, удобную для применения и пригодную для условий хранения; соответствие аминокислотной последовательности молекулы теоретическим данным (не менее 95%).

Разработаны требования к кандидату в ФСО рЧИФН бета-1b, включающие отсутствие в составе вспомогательных веществ белковой или иной природы, потенциально влияющих на профиль пептидной карты; стабильность раствора ФСО; соответствие требованиям спецификации на субстанцию за исключением показателей, изменяемых направленно (формы выпуска, рН и т.д.); соответствие аминокислотной последовательности молекулы теоретическим данным (не менее 95%).

Разработан и охарактеризован фармакопейный стандартный образец метиониновой формы рЧИФН альфа-2b для оценки подлинности первичной структуры методом пептидного картирования (ФСО 3.2.00433), который представляет собой замороженный раствор (концентрация 1 мг/мл, объем розлива 0,5 мл) с аттестованной характеристикой в виде абсолютного времени удерживания четвертого пика 33,8–37,0 мин, относительного времени удерживания первого пика 0,61–0,66, второго пика 0,74–0,78, третьего пика 0,90–0,95, пятого пика 1,02–1,03, шестого пика 1,03–1,04, седьмого пика 1,37–1,43, восьмого пика 1,51–1,59.

Разработан и охарактеризован фармакопейный стандартный образец рЧИФН бета-1b для оценки подлинности первичной структуры методом пептидного картирования (ФСО 3.2.00447), который представляет собой лиофилизат рЧИФН бета-1b без стабилизаторов белковой природы (0,25 мг/флакон) с аттестованной характеристикой в виде абсолютного времени удерживания третьего пика 42,0–43,2 мин, относительного времени удерживания первого пика 0,61–0,66, второго пика 0,68–0,73, четвертого

пика 1,04–1,06, пятого пика 1,14–1,15, шестого пика 1,22 –1,24, седьмого пика 1,29 –1,30.

Разработана методика пептидного картирования рчИФН бета-1b с применением фермента «эндопротеиназа Glu-C» и ацетатного буферного раствора для оценки подлинности первичной структуры молекулы с изучением ее специфичности и прецизионности (заявка на изобретение «Способ подтверждения структуры рекомбинантного интерферона бета-1b» № 2021127813 от 22.09.2021).

На основании полученных пептидных карт экспериментально показана возможность применения разработанных фармакопейных стандартных образцов с установленной аттестованной характеристикой для оценки подлинности вновь выпускаемых серий субстанций в практической деятельности разных фармацевтических предприятий.

На основе проведенных исследований стабильности в режиме реального времени экспериментально установлен срок годности разработанных фармакопейных стандартных образцов метиониновой формы рчИФН альфа-2b и рчИФН бета-1b в течение 2 лет, в течение которого профиль пептидной карты и время удерживания пиков остаются стабильны.

Практическая значимость исследования

Разработанные фармакопейные стандартные образцы позволяют унифицировать и стандартизовать подтверждение подлинности первичной структуры новых серий субстанций разных производителей. Благодаря этому, повышается уровень оценки качества лекарственных препаратов на основе рчИФН альфа и рчИФН бета, широко используемых в медицинской практике.

Получены новые данные, подтверждающие способность фермента «эндопротеиназа Glu-C из *Staphylococcus aureus* V8» гидролизовать рчИФН бета-1b в ацетатном буферном растворе pH 4,50-4,57, что дополняет современные представления о пептидном картировании рекомбинантных белков.

Разработанная методика пептидного картирования рчИФН бета-1b может быть использована фармацевтическими предприятиями для оценки подлинности первичной структуры новых серий субстанций рчИФН бета-1b на этапе готовой субстанции, не содержащей стабилизаторы белковой природы, или на этапе полупродукта до добавления вспомогательных веществ белковой природы.

Разработанная методика пептидного картирования рчИФН бета-1b с применением фермента «эндопротеиназа Glu-C» и ацетатного буферного раствора позволяет выявлять специфичные фрагменты молекулы, отличающие данный белок от рчИФН бета-1a, включая N-концевую последовательность, и замену аминокислоты в позиции 16(17).

Разработаны и утверждены паспорт на Стандартный образец метиониновой формы интерферона альфа-2b (ФСО 3.2.00433 (ОСО 42-28-433)) и паспорт на Стандартный образец интерферона бета-1b (ФСО 3.2.00447 (ОСО 42-28-447)).

Разработанные фармакопейные стандартные образцы метиониновой формы рчИФН альфа-2b (ФСО 3.2.00433 (ОСО 42-28-433)) и рчИФН бета-1b (ФСО 3.2.00447 (ОСО 42-28-447)) могут быть использованы в качестве образцов сравнения разными фармацевтическими предприятиями для оценки подлинности первичной структуры новых серий субстанций, что способствует единообразию проведения испытаний и стандартизации требований к показателю «Подлинность» однотипных субстанций разных производителей.

Разработанные фармакопейные стандартные образцы метиониновой формы рчИФН альфа-2b и рчИФН бета-1b внедрены в практическую деятельность фармацевтических компаний ООО «Фармапарк» и АО «Генериум» (акт внедрения от 18.03.2022), а также ООО НПП «Фармаклон» (акт внедрения от 16.09.2021).

Соответствие специальности

Диссертационная работа Голощаповой Евгении Олеговны «Разработка фармакопейных стандартных образцов для подтверждения подлинности структуры субстанций интерферонов» по тематике, методам исследования, научным положениям и выводам соответствует паспорту специальности: 1.5.6 – Биотехнология.

Соискатель имеет 9 опубликованных работ, в которых отражено основное содержание диссертации, из них 4 – статьи в рецензируемых изданиях.

Наиболее значимые работы:

1. Голощапова, Е.О. Стандартные образцы при оценке физико-химических показателей качества рекомбинантных интерферонов / Е.О. Голощапова // Материалы III научно-практической конференции молодых ученых «Приоритетные направления развития экспертной деятельности в области обращения лекарственных средств». – М.: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. – 2014. – С. 72-74.

2. Голощапова, Е.О. Теоретическое обоснование выбора субстанции интерферона альфа-2b для аттестации в качестве стандартного образца для оценки подлинности методом пептидного картирования / Е.О. Голощапова, О.Б. Устинникова, О.Б. Рунова, Л.В. Корсун // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. - 2016. - Т.16, № 3.- С. 161-165.

3. Голощапова, Е.О. Обзор методических подходов к оценке качества лекарственных средств на основе рекомбинантных интерферонов / Е.О. Голощапова, О.Б. Устинникова, Л.А. Гайдерова, М.Л. Байкова, Т.Н. Лобанова, И.М. Щербаченко, В.П. Бондарев // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. - 2017. - Т.17, № 3.- С. 152-157.

4. Голощапова, Е.О. Разработка порядка аттестации стандартного образца метиониновой формы интерферона альфа-2b для подтверждения подлинности методом пептидного картирования / Е.О. Голощапова, О.Б.

Устинникова, О.Б. Рунова, М.Г. Коротков, Р.А. Волкова // Медицинская иммунология. – 2018. – Т.20, № 4. – С.543-550.

5. Голощапова, Е.О. Рекомбинантные интерфероны бета-1а и бета-1в: особенности структуры белка и проблемные вопросы подтверждения ее подлинности / Е.О. Голощапова, О.Б. Устинникова, О.Б. Рунова // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т.52, № 8. – С.61-64.

6. Голощапова, Е.О. Подлинность структуры молекулы рекомбинантного интерферона бета-1в: разработка методики подтверждения / Е.О. Голощапова, А.С. Минеро, О.Б. Рунова, О.Б. Устинникова // Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2020: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 6-8 октября 2020 г., г. Москва. - Москва, 2020. – С.207-208.

7. Голощапова, Е.О. Разработка методики пептидного картирования для оценки подлинности субстанций рекомбинантного интерферона бета-1в / Е.О. Голощапова, А.С. Минеро, О.Б. Рунова, О.Б. Устинникова // Биофармацевтический журнал. - 2021. - Т.13, № 4. – С. 22-27.

8. Голощапова, Е.О. Разработка и аттестация фармакопейного стандартного образца для подтверждения подлинности первичной структуры очищенного рекомбинантного интерферона бета-1в методом пептидного картирования / Е.О. Голощапова, О.Б. Рунова, А.С. Минеро, О.В. Фадейкина, Р.А. Волкова, М.Б. Дегтерев, С.А. Таран, Р.Р. Шукуров, О.Б.Устинникова // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2022. – Т.22, №1. – С. 23-37.

9. Голощапова, Е.О. Разработка требований к качеству и процедуре аттестации стандартного образца оценки подлинности структуры молекулы рекомбинантного интерферона бета-1в / Е.О. Голощапова // Сборник тезисов XXIX Российского национального конгресса «Человек и лекарство», 4-7 апреля 2022 г., г. Москва. – Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2022. – С. 87.

10. «Способ подтверждения структуры рекомбинантного интерферона бета-1b». Заявка на изобретение РФ № 2021127813 от 22.09.2021.

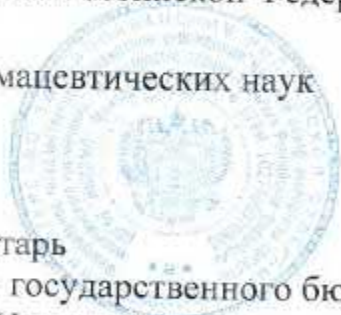
По итогам заседания принято следующее решение:

Кандидатская диссертация Голощаповой Евгении Олеговны «Разработка фармакопейных стандартных образцов для подтверждения подлинности структуры субстанций интерферонов» рекомендуется к официальной защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.6 – Биотехнология (биологические науки).

Заключение принято на заседании Ученого совета федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Присутствовало 24 человека. Результаты голосования: «за» - 24 чел. (единогласно), «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел, протокол № 1 от 22 марта 2022 года.

Председатель заседания
Федерального государственного бюджетного
учреждения «Научный центр экспертизы средств
медицинского применения» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

кандидат фармацевтических наук



Косенко Валентина Владимировна

Ученый секретарь
Федерального государственного бюджетного
учреждения «Научный центр экспертизы средств
медицинского применения» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

кандидат медицинских наук

Климов Владимир Иванович