

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук Шмарова Максима Михайловича на диссертационную работу Колесниковой Оксаны Николаевны на тему: «Оптимизация количественной оценки фенола и тиомерсала в иммунобиологических лекарственных препаратах», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология

### Актуальность темы исследования

Особенности производства иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП) часто приводят к необходимости использования консервантов. К таким особенностям можно отнести необходимость обеспечения безопасности использования мультidosных контейнеров; невозможность тепловой обработки при стерилизации продукции из-за опасности инактивации или удаления действующего вещества; использование консерванта в качестве дополнительного инактивирующего агента при тепловой инактивации; необходимость обеспечения микробиологической чистоты антигена на промежуточных стадиях производства; мутность препарата, обусловленная природой действующего вещества или наличием адьюванта; применение консерванта в качестве стабилизатора основного компонента.

Основными консервантами, входящими в состав производящихся в Российской Федерации ИЛП, являются тиомерсал, фенол.

Методическая база оценки содержания консервантов формировалась одновременно с разработкой и внедрением в практику здравоохранения соответствующих ИЛП. Фармакопейными методами являются методы, основанные на спектрофотометрии и колориметрии.

Международные стандарты предъявляют высокие требования к методикам лабораторного контроля качества, а именно, селективности, точности и воспроизводимости результатов. Наиболее доступными и востребованными, являются методики, основанные на современных методах

(высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газожидкостная хроматография (ГЖХ) и атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС)).

Оптимизация количественной оценки консервантов в ИЛП, заключающаяся в разработке, валидации и стандартизации новых методик, а также оценке сопоставимости результатов с фармакопейными методиками, является актуальным направлением исследования.

### **Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Автором разработана методика количественного определения фенола в ИЛП методом ГЖХ. Зарегистрирован патент Российской Федерации №2693518 на изобретение «Способ количественного определения фенола в биологических лекарственных препаратах методом газожидкостной хроматографии» приоритет изобретения 26 ноября 2018 г., дата регистрации 03 июля 2019 г. Экспериментально показана возможность применения данной методики для контроля качества всех групп вакцин и аллергенов, содержащих фенол в качестве консерванта.

Разработаны методика количественного определения фенола в ИЛП, на основе метода ВЭЖХ и методика количественного определения тиомерсала в ИЛП, на основе метода ААС ХП.

Разработаны и охарактеризованы стандартный образец содержания фенола методом ГЖХ - ФСО 3.1.00451 и стандартный образец содержания фенола спектрофотометрическим методом и методом ВЭЖХ – ФСО 3.1.00449.

Показана возможность применения стандартного образца ФСО 3.1.00427 содержания тиомерсала в сорбированных ИЛП, аттестованного колориметрической методикой, для контроля лабораторных испытаний по показателю «Тиомерсал» с применением методики ААС ХП.

### **Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационная работа выполнена в рамках государственных заданий НИР ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России: «Научное обоснование методов оценки качества, эффективности и безопасности иммунобиологических лекарственных препаратов и их стандартизация», регистрационный № 01201275293 (акт внедрения результатов НИР от 28.12.2017); «Совершенствование системы разработки и применения стандартных образцов, предназначенных для оценки качества, эффективности и безопасности лекарственных средств», регистрационный № 115111740007 (акт внедрения результатов НИР от 28.12.2017); «Научное обоснование перспективных направлений совершенствования иммунобиологических лекарственных препаратов, предназначенных для иммунопрофилактики инфекционных болезней», регистрационный № АААА-А18-118021590046-9 (акт внедрения результатов НИР от 13.12.2019); «Разработка перспективных направлений совершенствования экспертизы качества, эффективности и безопасности биологических лекарственных препаратов и стандартизация методов их оценки» № госрегистрации НИОКТР 121022000147-4 (ГЗ НИР 2021-2023).

Достоверность полученных результатов исследования обеспечивается большим объемом полученных данных, использованием общепринятых методов исследования и обработкой полученных данных при помощи общепринятых статистических тестов.

### **Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы**

Экспериментально обоснована возможность применения методики ГЖХ при определении фенола в ИЛП в присутствии высокомолекулярных примесей (белков и полисахаридов) и других компонентов препаратов, с применением отработанных (оригинальных) условий хроматографического разделения и использованием колонки высокой полярности со связанной ПЭГ-фазой и экспериментально подтверждена возможность ее применения для контроля качества всех групп вакцин и аллергенов, содержащих фенол.

Введение данной методики в практику лабораторного контроля качества ИЛП позволит повысить специфичность и точность определения за счет применения высокотехнологичного метода ГЖХ, что достигается путем хроматографического разделения компонентов испытуемого образца и детектирования с помощью пламенно-ионизационного детектора.

Экспериментально показана возможность применения разработанной методики ВЭЖХ для оценки содержания фенола в ИЛП.

Экспериментально показана возможность применения методики на основе ААС ХП для оценки тиомерсала в составе как несорбированных, так и сорбированных ИЛП.

Разработанная методика определения фенола в иммунобиологических лекарственных препаратах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии внесена в ОФС 1.7.2.0028.18 «Количественное определение фенола в биологических лекарственных препаратах» ГФ РФ (XIV, том 2).

Разработанная методика определения тиомерсала в иммунобиологических лекарственных препаратах методом атомно-абсорбционной спектроскопии холодного пара внесена в ОФС 1.7.2.0025.15 «Количественное определение тиомерсала в биологических лекарственных препаратах» ГФ РФ (XIV, том 2).

Разработанные ФСО могут быть использованы фармацевтическими предприятиями для осуществления внутрилабораторного контроля качества при определении фенола и тиомерсала в ИЛП.

Методика количественного определения фенола в иммунобиологических лекарственных препаратах на основе метода газожидкостной хроматографии внедрена в практическую деятельность фармацевтической компании ООО «Гритвак» (акт внедрения от 01.11.2021).

Методика количественного определения тиомерсала на основе метода атомно-абсорбционной спектроскопии холодного пара внедрена в

практическую деятельность ФГУП Санкт-Петербургского научно-исследовательского института ФМБА России (акт внедрения от 13.03.2017).

### **Апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях**

Апробация работы состоялась на заседании Ученого совета Федерального государственного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 7 от 28.11.2023).

Результаты диссертационной работы доложены на третьей научно-практической конференции молодых ученых «Приоритетные направления развития экспертной деятельности в области обращения лекарственных средств» (2014 г., г. Москва, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России) и на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы» Москва 2019.

По результатам диссертационных исследований опубликовано 8 печатных работ, в том числе 3 – в рецензируемых изданиях, 2 - в других изданиях, 2 – тезисы, 1 - патент на изобретение Российской Федерации.

### **Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации**

Диссертационная работа Колесниковой Оксаны Николаевны является законченной научно-квалификационной работой, изложена на 185 страницах, содержит 56 таблиц и иллюстрирована 30 рисунками, имеет общепринятую структуру. Список литературы состоит из 236 источников, в том числе 50 отечественных и 186 зарубежных.

Во введении освещена актуальность, степень разработанности, теоретическая и практическая значимость темы исследования. Автору принадлежит основная роль в постановке задач исследования, определении основных объектов исследования, планировании и проведении теоретических и экспериментальных исследований, обобщении полученных

данных и их статистической обработке. Задачи четко сформулированы и согласуются с целью исследования.

Первая глава включает обзор литературы, сделанный со знанием изучаемой темы с соблюдением логики рассуждений. Ссылки на источники достоверны, научная информация по изучаемой теме представлена современными данными, отражающими проблему использования консервантов в ИЛП, состояние нормативной базы, регламентирующей содержание консервантов и методов контроля качества на содержание консервантов в ИЛП.

Вторая глава посвящена собственным исследованиям автора по разработке методик определения фенола в ИЛП, основанных на хроматографических методах: газожидкостной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Автором спланирован и осуществлен процесс подбора хроматографических колонок, условий хроматографирования и условий проведения анализа, обеспечивающих детектирование и количественное определение фенола в составе ИЛП, проведена валидация разработанных методик и аттестация стандартных образцов содержания фенола. Получены данные по сопоставимости методик определения фенола в ИЛП.

В третьей главе описаны собственные исследования автора по разработке методики определения тиомерсала в ИЛП на основе метода атомно-абсорбционной спектроскопии холодного пара. Автором подобраны условия пробоподготовки и минерализации образцов, калибровочные стандарты и аналитическая область методики, позволяющие количественно определять содержание тиомерсала в ИЛП по определяемым ионам ртути, проведена валидация методики, получены данные по сопоставимости методик определения тиомерсала в ИЛП.

В заключении подчеркнута актуальность темы исследований, выделены ключевые моменты исследований, сделано обобщение полученных

результатов.

Выводы научно обоснованы и являются логичным завершением диссертационного исследования, соответствуют целям и задачам исследования.

Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению работы нет. В процессе ознакомления с диссертационной работой возник вопрос – в чем состоит необходимость разработки двух методик, на основе газожидкостной хроматографии и на основе высокоэффективной жидкостной хроматографии, для определения одного показателя – «Фенола».

### **Соответствие специальности**

Научные положения диссертации и результаты проведенного исследования соответствуют научной специальности 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки), пункты: 8 – «Промышленная биотехнология, включая создание и применение промышленных микробных продуцентов», 9 – «Медицинские биотехнологии. Технологии производства вакцин», 12 – «Контроль качества и оценка безопасности пищевых, медицинских, ветеринарных и парфюмерно-косметических биопрепаратов».

### **Заключение**

Диссертационная работа Колесниковой Оксаны Николаевны на тему: «Оптимизация количественной оценки фенола и тиомерсала в иммунобиологических лекарственных препаратах», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. – биотехнология (биологические науки), выполненной под руководством Устинниковой Ольги Борисовны, является завершенной научно-квалификационной работой и содержит новое решение такой актуальной научной задачи как оптимизация количественной оценки консервантов в иммунобиологических лекарственных препаратах. По актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Колесниковой Оксаны Николаевны отвечает требованиям п. 9 - 14

«Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлениями Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 26.05.2020 № 751, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 №1539, от 26.09.2022 №1690, от 26.01.2023 №101, от 18.03.2023 №415, 26.10.2023 №1786, от 25.01.2024 №62 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Колесникова Оксана Николаевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки).

**Официальный оппонент:**

Доктор биологических наук, руководитель лаборатории молекулярной биотехнологии Федерального Государственного Бюджетного Учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18,

Телефон +7 (495) 193-61-35,

e-mail: [mshmarov@yahoo.com](mailto:mshmarov@yahoo.com))

доктор биологических наук

*14.11.2024*

Максим Михайлович Шмаров

*Подпись М.М. Шмарова заверяю:*

Ученый секретарь Федерального Государственного Бюджетного Учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18,

Телефон +7 (499) 193-71-71, e-mail: [sysoliatina@gamaleya.org](mailto:sysoliatina@gamaleya.org))

Кандидат биологических наук



Елена Владимировна Сысолятина