

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук Бонарцева Антона Павловича на диссертационную работу Устинниковой Ольги Борисовны на тему: «Совершенствование методологии оценки физико-химических показателей качества биологических лекарственных препаратов», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. - биотехнология (биологические науки)

Актуальность темы исследования

В последние два десятилетия в фармацевтике происходит настоящая революция, так как в мире и в России стали выходить на рынок и внедряться в клиническую практику целый ряд лекарственных препаратов нового поколения помимо так называемых «малых молекул», и это уже не только рекомбинантные белки, но и такие биотехнологические продукты, как конъюгаты моноклональных антител, препараты на основе гибридных белков, РНК- и ДНК-вакцины, препараты на основе РНК-интерференции, генотерапевтические препараты, лекарственные препараты на основе вирусов, клеточные препараты, и всевозможные их модификации. Между тем, система контроля качества лекарств, остается во многом на уровне фармацевтических технологий прошлого века и не в полной мере соответствует уровню должного контроля качества лекарственных препаратов, полученных с помощью ДНК-рекомбинантных технологий, хотя такие биотехнологические препараты используются в клинической практике уже более 40 лет. Усовершенствование методологии оценки качества лекарств в России важно также и потому, что имеет место неравномерное развитие фармацевтической биотехнологии в России, США, Китае, Индии, странах ЕС и других странах. Более того, прямо на глазах идет перестройка фармацевтического рынка, из клинической практики выводятся одни препараты и вводятся новые, имеющие принципиально иные фармацевтические технологии, что также требует значительного усовершенствования системы контроля качества лекарственных препаратов.

Поэтому комплексное исследование по совершенствованию методологии оценки качества биотехнологических лекарственных препаратов, которому посвящена работа Устинниковой Ольги Борисовны, является высоко актуальной задачей.

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

Впервые были апробированы ряд аналитических методов (таких как масс-спектрометрия высокого разрешения, аналитический ферментативный гидролиз, высокоэффективная жидкостная хроматография гидрофильного взаимодействия, эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография, атомно-абсорбционная спектрометрия с электротермической атомизацией) для контроля качества, прежде всего, подлинности первичной структуры и значимых посттрансляционных модификаций, а также содержания в препарате различных дополнительных веществ целого ряда биотехнологических лекарственных препаратов, что позволило, например, подтвердить применимость относительно простых, но надежных и хорошо зарекомендовавших себя методов, таких как пептидное картирование, для анализа качества биопрепаратов при наличии стандартных образцов. Фармакопейные стандартные образцы для подтверждения подлинности первичной структуры рекомбинантных интерферонов альфа-2b и бета-1b были также впервые разработаны. А также, что более важно, впервые были разработаны классификация, фармакопейные требования к оценке качества целого ряда биопрепаратов, производимых в России, и на этой основе – универсальный алгоритм требований к разработке и аттестации стандартных образцов, что позволяет значительно упорядочить систему контроля качества биотехнологических лекарственных препаратов в нашей стране, особенно препаратов на основе рекомбинантных белков сложной структуры, например, таких как рекомбинантные терапевтические белки, модифицированные ПЭГ и гликозилированные рекомбинантные факторы свертывания крови.

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

Достоверность полученных результатов подтверждается большим объемом проведенных исследований с использованием сложных методов, а также статистической обработкой полученных результатов с помощью однофакторного дисперсионного анализа с расчетом критерия Фишера с использованием статистических выборок с необходимым количеством наблюдений. Следует отметить, что данные экспериментальных исследований получены в лаборатории, входящей в состав Испытательного центра, имеющего аккредитацию системы менеджмента качества для разработки и аттестации стандартных образцов, имеющих статус фармакопейных.

Диссертантом сформулированы 4 положения, выносимые на защиту, которым соответствуют 8 выводов. Выводы полностью соответствуют теоретическим и экспериментальным результатам работы. Обсуждение полученных результатов опирается на полученные теоретические и экспериментальные данные. Выдвинуты 8 практических рекомендаций по усовершенствованию системы контроля качества биотехнологических лекарственных препаратов и внедрению разработанных рекомендаций в отечественную фармакопейную практику.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Теоретическая и практическая значимость работы связана с ее структурой, которая состоит из двух примерно равных направлений: разработкой требований к оценке качества биотехнологических лекарственных препаратов и самих фармакопейных стандартных образцов для их включения в нормативные документы отечественной фармакопеи, а также экспериментальных исследований по проверке применимости тех или иных используемых в фармацевтике методов анализа структуры рекомбинантных белков для оценки качества биопрепаратов, производимых в России. Проведенная работа позволит значительно усовершенствовать

систему контроля качества биотехнологических лекарственных препаратов российского производства при ее внедрении в отечественную фармакопею в связи с устранением ее зависимости от международных стандартных образцов. В работе показано, что использование относительно простых и дешевых методов контроля качества препаратов, например, метода пептидного картирования при наличии отечественных стандартных образцов позволяет российским фармацевтическим предприятиям проводить контроль качества биопрепаратов на столь же высоком уровне, как и при использовании сложных и дорогих технологий, что очень актуально для отечественной фармацевтики. С другой стороны, проведенное исследование позволит проводить контроль качества лекарственных препаратов на основе рекомбинантных белков сложной структуры, таких как ПЭГилированные и гликозилированные белки, что имеет большую практическую важность в связи с нестабильностью и вариативностью их структуры, от которой в значительной мере зависит терапевтическая эффективность этих препаратов.

Апробация результатов исследования, в том числе публикаций в рецензируемых изданиях

Результаты диссертационной работы Устинниковой О.Б. представлены и обсуждены на 4 научных и научно-практических конференциях. Диссертантом опубликована 31 печатная работа, из них 18 статей в рецензируемых изданиях, 5 статей в других изданиях, 4 - в материалах конференций, 4 патента на изобретение РФ.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертационная работа Устинниковой О.Б. оформлена по стандартной схеме в соответствии с требованиями ВАК, предъявляемым к докторским диссертациям, изложена на 312 страницах и состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка используемой литературы и трех приложений. Работа иллюстрирована 65 рисунками и содержит 32 таблицы. Список

использованной литературы включает 443 источника, из которых 105 в российских научных журналах и книгах, что является довольно большой долей для работ такого типа и позволяет дать более полное представление об исследуемой проблематике в отечественной фармацевтике. Рисунки оформлены на высоком уровне с информативными подписями и обозначениями, диаграммы и графики построены в профессиональных программах и в едином выдержанном стиле.

В разделе «Введение» приводится подробное обоснование актуальности исследования, анализируется степень разработанности темы исследования, описана новизна исследования, сформулированы цель и задачи работы.

В своей работе в качестве основной цели соискатель ставит совершенствование методологии оценки физико-химических показателей качества медицинских биологических лекарственных препаратов. Для достижения поставленной цели ей были выдвинуты 7 задач, которые были успешно решены в ходе проведения исследования, что отражается в выводах.

Описание методологии и методов исследования приведены в соответствующем подразделе «Введения», как для теоретического, так и для экспериментального этапов работ. Приводится подробный список и описание образцов биопрепаратов, используемых для экспериментальных исследований реактивов и экспериментальных аналитических методов. В работе были использованы методы высокого технологического уровня и сложности: масс-спектрометрия высокого разрешения, аналитический ферментативный гидролиз, высокоэффективная жидкостная хроматография гидрофильного взаимодействия с флуоресцентным детектированием, эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография, атомно-абсорбционная спектрометрия с электротермической атомизацией, пептидное картирование.

Раздел «Обзор литературы» представлен Главой 1, которая в свою очередь состоит из двух подразделов. В первом подразделе рассматривается

проблема стандартизации подходов к оценке подлинности первичной структуры и посттрансляционных модификаций рекомбинантных белков в связи с большим разнообразием химической структуры и модификаций получаемых белков, в том числе рассматривается проблема анализа качества ПЭГилирования рекомбинантных белков. Второй подраздел посвящен проблеме использования большого разнообразия вспомогательных веществ в составе биотехнологических лекарственных препаратов, что затрудняет оценку качества препаратов, в том числе рассмотрена проблема использования в составе вакцин различных адъювантов в связи с проблемой контроля качества вакцин. Следует отметить насыщенность обзора актуальной научной информацией по выбранной тематике, очень подробное и детальное описание основных научных проблем, в рамках которых проводились экспериментальные исследования в данной диссертационной работе. Такая высокая информативность обзора позволяет погрузиться в тему диссертационной работы, а также оценить перспективность исследования.

Раздел «Результаты собственных исследований» состоит из трех самостоятельных глав.

Глава 2 описывает теоретические исследования по анализу особенностей оценки подлинности структуры таких рекомбинантных терапевтических белков, как рекомбинантные интерфероны альфа и бета, факторы свертывания крови и белки, модифицированные ПЭГ с целью разработки общих гармонизированных требований.

Глава 3 посвящена экспериментальным исследованиям по практическому применению требований к разработке и аттестации стандартных образцов подтверждения подлинности рекомбинантных терапевтических белков на уровне аминокислотной последовательности и значимых посттрансляционных модификаций.

Глава 4 посвящена экспериментальным исследованиям по оптимизации оценки вспомогательных веществ, таких как полисорбат 80, аминокислоты и алюминий и разработке унифицированных методик контроля качества.

Раздел «Заключение» содержит краткое описание полученных результатов и анализ всей проведенной работы и полученных в ходе ее выполнения результатов, а именно что элементы методологии оценки качества представляют собой фармакопейные требования и их методическое обеспечение, которое, в свою очередь, включает в себя комплекс методов оценки качества и их метрологическое обеспечение в виде стандартных образцов. Совершенствование методологии оценки качества заключается в разработке и актуализации вышеуказанных элементов путем разработки гармонизированных фармакопейных требований и актуализации имеющихся, путем разработки высокотехнологичных методик оценки показателей качества биотехнологических лекарственных препаратов и разработки новых стандартных образцов или расширении области применения имеющихся. Постулируется также выполнение цели исследования в усовершенствовании существующей методологии оценки физико-химических показателей качества биологических лекарственных препаратов.

Выводы, изложенные в работе, опираются на обширный экспериментальный материал, что подчеркивает качество исследования. Выводы полностью соответствуют цели и задачам исследования, сформулированы ясно и логически выверено, отражают все полученные в работе результаты теоретических и экспериментальных исследований.

В разделе «Практические рекомендации» автором определены фармакопейные требования и алгоритм аттестации стандартных образцов при разработке и производстве; при формировании соответствующих разделов регистрационных досье, предназначенных для проведения регистрационной и пострегистрационной экспертизы; при проведении государственной регистрационной и пострегистрационной экспертизы; при посерийном контроле качества данных препаратов, а ряд экспериментальных методик рекомендуется внедрить в фармацевтическое производство.

В целом, диссертация Устинниковой О.Б. оставляет благоприятное впечатление. Автореферат Устинниковой О.Б. в необходимом объеме

отражает содержание диссертационного исследования, в достаточной мере проиллюстрирован таблицами и рисунками. Диссертация и автореферат оформлены согласно требованиям ГОСТ 7.0.11-2011.

Соответствие специальности

Диссертационная работа Устинниковой О.Б. по тематике, методам исследования, научным положениям и выводам соответствует паспорту специальности 1.5.6 – биотехнология (п.12 и п. 29).

Принципиальных замечаний к работе не имеется. Однако, при рассмотрении диссертационной работы возникли вопросы и замечания дискуссионного или технического характера:

- 1) Одни стандартные образцы имеют статус фармакопейных, а другие – стандартных образцов предприятий, с чем это связано?
- 2) Почему нет экспериментальной части для ПЭГ-модифицированных белков, исследования по ним ограничены теоретическими исследованиями?
- 3) Довольно часто к какому-либо утверждению приводится сразу много источников литературы (7 и более), с чем это связано?

Однако, сделанные замечания имеют дискуссионный характер, не имеют принципиального значения и не снижают общую положительную оценку работы диссертанта и впечатления от проделанной работы.

Заключение

Диссертационная работа Устинниковой Ольги Борисовны на тему «Совершенствование методологии оценки физико-химических показателей качества биологических лекарственных препаратов», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. - биотехнология (биологические науки), является законченным научным трудом, в котором, на основании выполненных автором исследований, решена проблема совершенствование методологии оценки физико-химических показателей качества биологических лекарственных препаратов, имеющая важное хозяйственное значение. По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа

Устинниковой Ольги Борисовны полностью отвечает требованиям пунктов 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 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 № 751, 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 №415, 26.10.2023 №1786, от 25.01.2024 №62, от 16.10.2024 №1382), установленным для диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Устинникова Ольга Борисовна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. - биотехнология (биологические науки).

Официальный оппонент:

доцент кафедры биоинженерии биологического факультета Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Адрес: 119234, г. Москва, Ленинские горы, д.1 стр. 12.

Телефон: +7 (916) 612-62-32,

e-mail: ant_bonar@mail.ru

доктор биологических наук
«29» мая 2025 года



Антон Павлович Бонарцев

Подпись Антона Павловича Бонарцева заверяю:

заместитель декана биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Адрес: 119234, г. Москва, Ленинские горы, д.1 стр. 12.

Телефон: +7 (495) 939-27-76,

e-mail: info@mail.bio.msu.ru

доктор биологических наук,
профессор

«29» мая 2025 года



Александр Михайлович Рубцов