

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук Шмарова Максима Михайловича 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

Непрерывное развитие фармацевтического рынка, международные интеграционные процессы и внедрение в лабораторную фармацевтическую практику высокотехнологичных методов исследования не позволяют рассматривать существующую методологию оценки качества биологических лекарственных препаратов как неизменный свод единожды установленных нормативно-регуляторных требований и их методического обеспечения.

Пересмотр и обновление методологии анализа качества медицинских биотехнологических препаратов становятся важнейшими задачами, которые способствуют выводу на рынок фармацевтической продукции, отвечающей мировым стандартам. Данный процесс, учитывающий формирование наднациональной регуляторной системы в рамках ЕАЭС, охватывает разработку единых регулирующих документов и согласованный контроль за качеством продукции. При этом, согласованность фармацевтического контроля на всех этапах жизненного цикла препарата достигается, в том числе, наличием унифицированного методического сопровождения, отвечающего современным требованиям лабораторной деятельности.

К проблемным вопросам контроля качества можно отнести отличительную особенность биотехнологических препаратов, которая заключается в обязательном подтверждении структуры действующего вещества, которая включает проверку аминокислотной последовательности, а также анализ посттрансляционных или искусственных модификаций. Для достоверной идентификации результатов требуется применение стандартных образцов сравнения. Как правило, в этой роли выступает серия очищенного белка, соответствующего анализируемому веществу.

Единые требования к процедуре разработки и аттестации подобных стандартных образцов отсутствовали, при том, что существующие международные стандартные образцы подтверждения подлинности структуры не охватывают весь спектр рекомбинантных терапевтических белков.

Разработка унифицированных подходов к количественной оценке вспомогательных веществ, была и остается востребованным направлением исследований в области биотехнологии и фармацевтической химии. Современный уровень понимания влияния вспомогательных веществ на эффективность и безопасность применения лекарственных препаратов, а также развитие лабораторной техники, делают данное направление еще более актуальным и позволяют разрабатывать технически более совершенные решения.

В связи с этим, диссертационная работа Устинниковой О.Б., посвященная разработке гармонизированных регуляторных требований к препаратам на основе востребованных рекомбинантных интерферонов альфа и бета, фактора свертывания крови VII активированного, пегилированных рекомбинантных белков, систематизации требований к аттестации стандартных образцов и разработке стандартных образцов, предназначенных для контроля подлинности вышеуказанных белков, а также разработке унифицированных методик оценки вспомогательных веществ, является важным и актуальным исследованием, вносящим существенный вклад в совершенствование методологии оценки качества лекарственных средств.

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

Новизна представленных исследований обусловлена выбором направления исследования, основанного на предварительном научном анализе существующей методологии оценки физико-химических показателей качества биологических лекарственных препаратов. Выявленные и сформулированные в виде задач актуальные направления исследования нашли отражение в результатах представленной работы. Впервые разработаны: классификация и фармакопейные требования к оценке подлинности первичной структуры и значимых

посттрансляционных модификаций рекомбинантных факторов свертывания крови, фармакопейные требования к номенклатуре контролируемых показателей качества рекомбинантных терапевтических белков модифицированных PEG и фармакопейные требования к оценке подлинности первичной структуры рекомбинантных интерферонов альфа-2b и бета-1b; разработаны и представлены в виде универсального алгоритма требования к разработке и аттестации стандартных образцов, предназначенных для подтверждения подлинности первичной структуры и значимых посттрансляционных модификаций рекомбинантных терапевтических белков; разработаны фармакопейные стандартные образцы, предназначенные для подтверждения подлинности аминокислотной последовательности рекомбинантных интерферонов альфа-2b и бета-1b (ФСО.3.2.00433, ФСО.3.2.00456 и ФСО.3.2.00477); разработаны унифицированные методики для оценки актуальных вспомогательных веществ: полисорбата 80, аминокислот и ионов алюминия, защищенных патентами Российской Федерации. Полученные результаты, сформулированные в виде выводов и рекомендаций, устраняют имеющиеся на момент начала данной работы, несовершенства методологии оценки физико-химических показателей качества, касающиеся отечественных фармакопейных и регуляторных требований, а также непосредственно фармацевтической экспертизы качества образцов биологических лекарственных препаратов, проводимой в производственных и других контрольно-аналитических аккредитованных лабораториях.

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

Основные положения, выносимые на защиту, сформулированы лаконично и отражают суть проведенных исследований. Достоверность выполненных исследований не вызывает сомнения и обеспечивается использованием широкой линейки биологических лекарственных препаратов и высокотехнологичных, максимально информативных методов исследования, а также выполнением экспериментальной части исследования в лаборатории, имеющей аккредитацию системы менеджмента качества согласно ГОСТ ISO 17025-2019 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий», что гарантирует

получение статистически достоверных результатов исследования, включая разработку фармакопейных стандартных образцов и валидационные исследования разработанных методик. Кроме того, результаты диссертационной работы полностью получены в ходе выполнения пяти государственных заданий Минздрава России на осуществление прикладных научных исследований и разработок в период с 2015 по 2023 гг.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Результаты диссертационного исследования Устинниковой О.Б. имеют существенное теоретическое и практическое значение. Теоретическое значение работы заключается в использовании комплексного подхода к совершенствованию методологии оценки физико-химических показателей качества биологических лекарственных препаратов - разработке и актуализации нормативных и регуляторных документов и их аналитического обеспечения в виде стандартных образцов и методик контроля качества. Также к теоретически значимым результатам исследования следует отнести расширение представлений о структуре пептидов, полученных в результате ферментного протеолиза рекомбинантных интерферонов альфа, бета и фактора свертывания крови VIIa, а также выявленные структурные различия в профиле гликозилирования рекомбинантного фактора свертывания крови VIIa. Практическая значимость исследования подтверждена внедрением полученных результатов в научную и практическую деятельность

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России в составе пяти Руководств по экспертизе; использованием результатов исследования при формировании четырех фармакопейных статей, предназначенных для Государственной Фармакопеи Российской Федерации; внедрением результатов исследования на четырех отечественных фармацевтических предприятиях.

Апробация результатов исследования

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 в соответствии с требованиями ВАК, предъявляемым к докторским диссертациям, изложена на 312 страницах, 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.

В разделе «Введение» автор приводит обоснования актуальности и достаточно полные сведения степени разработанности темы исследования. Сведения, изложенные в подразделе материалы и методы, позволяют объективно оценить широкий охват номенклатуры использованных в работе биологических лекарственных препаратов и свидетельствуют об использовании автором современных, максимально информативных методов, соответствующих задачам диссертационного исследования. Основные положения, выносимые на защиту, сформулированы лаконично и соответствуют задачам и выводам исследования. Приведены сведения о личном вкладе автора.

Диссертационная работа Устинниковой О.Б. содержит «Обзор литературы», в котором освещены структурные особенности рекомбинантных интерферонов альфа и бета, рекомбинантных факторов свертывания крови, рекомбинантных PEG-модифицированных белков и проблемные вопросы подтверждения подлинности их структуры, а также приведен обзор актуальных вспомогательных веществ (стабилизаторов и адъювантов) в составе биологических лекарственных препаратов и особенностей их количественной оценки. Обзор дает полное представление об актуальности темы исследования, а также освещает иные актуальные направления развития регуляторной фармацевтической практики в отношении биологических лекарственных препаратов.

Раздел «Результаты собственных исследований» состоит из трех самостоятельных глав, содержащих весь объем проведенных исследований.

Вторая глава представляет этап теоретических исследований по разработке общих гармонизированных требований к оценке подлинности структуры рекомбинантных интерферонов альфа и бета, рекомбинантных факторов свертывания крови и рекомбинантных PEG-модифицированных белков, а также систематизации требований к разработке и аттестации стандартных образцов для подтверждения подлинности структуры рекомбинантных терапевтических белков. Полученные автором результаты изложены в общих фармакопейных статьях «Интерфероны» и «Факторы свертывания крови человека (генно-инженерные, рекомбинантные)», вошедших в XIV издание Государственной фармакопеи РФ, в проекте ОФС «Пегилированные (конъюгированные) терапевтические белки, полученные с применением технологии рекомбинантной ДНК», предназначенной для включения в XV издание Государственной фармакопеи РФ, а также изложены в Руководствах по экспертизе лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России.

Третья глава посвящена практическому применению требований к разработке и аттестации стандартных образцов подтверждения подлинности рекомбинантных терапевтических белков на уровне аминокислотной последовательности и значимых посттрансляционных модификаций.

В результате проведенных исследований автором разработаны индивидуальные программы аттестации и аттестованы фармакопейные стандартные образцы ФСО 3.2.00433 для интерферона альфа-2b, содержащего N-концевой метионин; ФСО 3.2.00456 для интерферона альфа-2b, не содержащего N-концевой метионин; ФСО 3.2.00447 для интерферона бета-1b, а также стандартный образец предприятия для рекомбинантного фактора свертывания крови VIIa. Для характеристики исходной аминокислотной последовательности данных белков и профиля гликозилирования фактора свертывания, а также для характеристики продуктов ферментативного гидролиза данных белков автор использует результаты

масс-спектрометрического анализа - максимально информативного метода оценки структуры молекул белков и пептидов на сегодняшний день.

В четвертой главе приведены материалы по разработке унифицированных методик количественной оценки ряда актуальных вспомогательных веществ: полисорбата 80 - методика на основе эксклюзионной ВЭЖХ; аминокислот (глицина, гистидина, метионина, лизина, пролина, аргинина) - методика на основе ВЭЖХ гидрофильного взаимодействия, а также ионов алюминия - методика на основе атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией. Пригодность методик показана на различных группах биологических лекарственных препаратов.

В разделе «Заключение» приведен анализ полученных результатов, подтверждены их актуальность, новизна, теоретическая и практическая значимость, обосновано утверждение о решении поставленных задач и достижении цели исследования.

Выводы полностью соответствуют цели и задачам исследования, сформулированы достаточно четко и подробно, и полностью отражают полученные результаты.

В разделе «Практические рекомендации» автором определены основные направления использования результатов исследования, способствующие оптимизации разработки, регистрации и фармацевтической экспертизе биологических лекарственных препаратов.

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).

В процессе ознакомления с диссертационной работой возник следующий вопрос:

- в работе были разработаны общие гармонизированные требования к оценке подлинности первичной структуры и значимых посттрансляционных модификаций рекомбинантных интерферонов альфа и бета, рекомбинантных факторов свертывания крови и PEG-модифицированных рекомбинантных белков, а также систематизированы требования к разработке и аттестации стандартных образцов, предназначенных для подтверждения подлинности их структуры, на основании чего был предложен универсальный алгоритм; может ли этот алгоритм быть применен к другим белкам, обладающим терапевтической или профилактической активностью, например к рекомбинантным антителам, в том числе одноцепочечным?

Указанный вопрос не отражается на оценке работы, связан с интересом к данной проблеме и носит дискуссионный характер.

Принципиальных замечаний к работе нет.

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, является законченным научным трудом, в котором, на основании выполненных автором исследований и разработок, в определенной автором области контроля качества биологических лекарственных препаратов, решена проблема актуализации и дополнения существующей методологии оценки физико-химических показателей качества биологических лекарственных препаратов в условиях интеграционных процессов фармацевтического рынка и развития аналитических технологий, 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, от 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:

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

доктор биологических наук

«27» мая 2025 года



Максим Михайлович Шмаров

Подпись Максима Михайловича Шмарова заверяю:

Ученый секретарь 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 (499) 193-71-71,

e-mail: sysoliatina@gamaleya.org

кандидат биологических наук

«27» мая 2025 года



Елена Владимировна Сысолятина