

«УТВЕЖДАЮ»

Директор

Федерального казенного учреждения науки
«Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»

Федеральной службы в сфере защиты
прав потребителей и благополучия человека
доктор медицинских наук, профессор, академик РАН



Кутырев Владимир Викторович

«29» апреля » 2025г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального казенного учреждения науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической ценности диссертационной работы 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 выполненной работы

С начала своей организации, стратегически важной, приоритетной задачей российского здравоохранения являлось обеспечение эпидемического благополучия страны. Одними из основных препаратов, обеспечивающих указанное благополучие, являются иммунобиологические препараты (вакцины, иммуноглобулины, цитокины и т.д.). В связи с широким применением данных лекарственных средств растут и требования к безопасности и эффективности иммунобиологических препаратов.

В настоящее время высокая востребованность биологических лекарственных препаратов вызывает необходимость разработки новых более эффективных препаратов. Технологические платформы биологических лекарственных препаратов, в том числе вакцин последнего поколения, а также использование достижений геной инженерии при разработке фармацевтических субстанций, включая направленные модификации биологически активных белков, являются приоритетными направлениями развития медицинской биотехнологии.

В свою очередь необходимо понимать, что совершенствование методологии оценки качества биологических лекарственных препаратов - непрерывный процесс, обусловленный развитием медицинских биотехнологий и их нормативно-регуляторного обеспечения, гарантирующего поступление на фармацевтический рынок биомедицинских лекарственных средств, отвечающих отечественным и международным стандартам качества. Процесс обновления затрагивает элементы методологии, связанные с разработкой и внедрением в биотехнологическое производство новых высокотехнологичных методов, а также непрерывную актуализацию существующих требований и регулирующих документов к оценке качества лекарственных средств.

Экспертная оценка качества биологических лекарственных препаратов (в частности - физико-химических показателей качества) в условиях формирования гармонизированных регуляторных и фармакопейных требований, является многофакторной задачей, которая диктует необходимость решения конкретных вопросов в рамках уже существующей регуляторной документации ЕАЭС.

Таким образом, разработка и актуализация нормативно-правовых документов, основанных на принципах гармонизации международных и отечественных регуляторных требований к биотехнологическим медицинским препаратам; разработка унифицированных методик оценки качества, учитывающих особенности действующего вещества, полученного биотехнологическим путем; разработка стандартных образцов, предназначенных для оценки подлинности структуры терапевтических белков, полученных с применением технологии рекомбинантной ДНК, являются актуальным направлением развития медицинской биотехнологии - совершенствования методологии оценки качества биологических лекарственных препаратов.

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

Совершенствование методологии контроля физико-химических показателей качества медицинских биопрепаратов, в том числе подлинности первичной структуры и значимых посттрансляционных модификаций биотехнологических медицинских продуктов, проведено путем разработки новых и актуализации существующих методических решений и нормативных документов, учитывающих современные тенденции разработки, регистрации и обращения биологических лекарственных препаратов.

Авторами впервые разработана 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, нашедшие отражение в общих фармакопейных статьях, предназначенных для Государственной фармакопеи Российской Федерации и имеющих статус «вводится впервые».

Диссертантом впервые 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, позволяющие разрабатывать индивидуальные программы аттестации независимо от наличия международных стандартных образцов.

Впервые 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), в ходе аттестации которых методом масс-спектрометрии высокого разрешения изучены структуры основных, полученных в результате ферментативного гидролиза, пептидов, формирующих характеристические пики на соответствующих пептидных картах, и показана специфичность пептидов верифицированной аминокислотной последовательности исходного белка.

Разработаны оригинальные условия ферментативного гидролиза рекомбинантного интерферона бета-1b, позволяющие в комплексе с последующим высокоэффективным хроматографическим разделением контролировать подлинность структуры вновь получаемых серий вышеуказанного белка путем получения специфичной пептидной карты (Патент на изобретение РФ № 2780675).

Впервые соискателем разработана и предложена унифицированная методика высокоэффективной жидкостной хроматографии гидрофильного взаимодействия для контроля качества медицинских биопрепаратов по количественному содержанию глицина (Патент на изобретение РФ № 2700831) и аминокислот в составе их смеси, основанная на использовании доступного для всех производителей УФ-детектирования продуктов хроматографического разделения без получения химических производных аналита, селективно в рамках одного анализа.

Разработана оригинальная унифицированная методика эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии для контроля качества медицинских биопрепаратов по количественному содержанию полисорбата-80, основанная на использовании доступного для всех производителей УФ-детектирования продуктов хроматографического разделения без получения химических производных аналита (Патент на изобретение РФ № 2812788).

Автором впервые разработана унифицированная методика атомно-абсорбционного спектрометрии с электротермической атомизацией для контроля качества медицинских биопрепаратов по количественному содержанию ионов алюминия, основанная на использовании для электротермической ионизации щелочного гидролизата (Патент на изобретение РФ № 2799235).

Таким образом, научная новизна подтверждена 4 патентами на изобретение РФ: № 2780675, № 2700831, № 2812788, № 2799235.

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Результаты диссертационной работы получены при выполнении государственных заданий ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России на осуществление прикладных научных исследований и разработок в период с 2015 года по настоящее время при выполнении следующих научно-исследовательских работ:

1. 2015-2017 гг. - Научное обоснование и разработка методологии экспертизы качества, эффективности и безопасности препаратов крови, № госрегистрации 115111740010.

2. 2015-2017 гг. - Совершенствование системы разработки и применения стандартных образцов, предназначенных для оценки качества, эффективности и безопасности лекарственных средств, № госрегистрации 115111740007.

3. 2018-2020 гг. - Научное обоснование перспективных направлений совершенствования иммунобиологических лекарственных препаратов, предназначенных для иммунопрофилактики инфекционных болезней, № госрегистрации АААА-А18118021590046-9.

4. 2018-2020 гг. - Научное обоснование перспективных направлений совершенствования методологии экспертизы лекарственных средств, № госрегистрации АААА-А18-118021590049-0.

5. 2021-2023 гг. - Разработка перспективных направлений совершенствования экспертизы качества, эффективности и безопасности биологических лекарственных препаратов и стандартизация методов их оценки, № госрегистрации 121022000147-4.

Значимость для науки и практики данных, полученных автором диссертации

Совершенствование методов оценки физико-химических показателей качества биологических лекарственных препаратов, заключающегося в разработке и актуализации нормативных и регуляторных документов, а также разработке стандартных образцов и методик контроля качества, позволяет оптимизировать процесс теоретической и лабораторной фармацевтической экспертизы физико-химических показателей качества биологических лекарственных препаратов, что обеспечивает эффективность и безопасность их применения.

Наличие фармакопейных требований, гармонизированных с международными нормативными документами и отражающих особенности российских медицинских биотехнологических препаратов, способствует формированию единой регуляторной платформы обращения лекарственных средств в рамках задач Евразийского экономического союза, а разработка стандартных образцов, предназначенных для контроля подлинности первичной структуры и значимых посттрансляционных модификаций рекомбинантных терапевтических белков, в том числе стандартных образцов, являющихся полноценной заменой международным стандартным образцам, способствует обеспечению технологической независимости Российского биофармацевтического рынка.

Разработанные нормативные документы, содержащие фармакопейные, гармонизированные с международными нормативными документами, требования к оценке подлинности первичной структуры и значимых посттрансляционных модификаций рекомбинантных интерферонов, рекомбинантных факторов свертывания крови, PEG-модифицированных рекомбинантных белков, позволяют унифицировать требования к разработке препарата и материалам, представляемым в регистрационном досье на препарат и оптимизируют процесс регистрационной и пострегистрационной экспертизы.

Разработанные требования к аттестации стандартных образцов, предназначенных для подтверждения подлинности первичной структуры и значимых посттрансляционных модификаций рекомбинантных терапевтических белков, представленные в виде универсального алгоритма, позволяют разрабатывать индивидуальные программы аттестации независимо от наличия международных стандартных образцов, унифицируют требования к материалам по стандартным образцам, представляемым в регистрационном досье на препарат и оптимизируют процесс регистрационной и пострегистрационной экспертизы.

Разработанные и аттестованные фармакопейные стандартные образцы рекомбинантных интерферонов альфа-2b содержащих (ФСО.3.2.00433) и не содержащих (ФСО.3.2.00456) N-концевой метионин, а также рекомбинантного интерферона бета-1b (ФСО.3.2.00477) позволяют оценивать подлинность первичной структуры каждой новой серии соответствующих белков независимо от наличия международных стандартных образцов, а также стандартизуют условия данной оценки на разных предприятиях и в контрольных лабораториях.

Разработанный и аттестованный стандартный образец предприятия для оценки подлинности аминокислотной последовательности и профиля гликозилирования рекомбинантного седьмого активированного фактора свертывания крови позволяет оценивать подлинность первичной структуры и профиля гликозилирования каждой новой серии данного белка, независимо от наличия международного стандартного образца.

Разработанная унифицированная методика высокоэффективной хроматографии гидрофильного взаимодействия для селективного определения аминокислот (глицин, гистидин, метионин, пролин, аргинин, лизин и их смеси) рассчитана на широкий спектр биологических лекарственных препаратов и позволяет проводить прямое количественное определение одной или нескольких аминокислот, входящих в состав препарата, в ходе одного анализа без предварительной дериватизации аналита.

Разработанная унифицированная методика эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения полисорбата 80 рассчитана на широкий спектр биологических лекарственных препаратов и позволяет проводить прямое количественное определение полисорбата 80 без предварительной дериватизации аналита.

Разработанная методика атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией для определения ионов алюминия в биологических лекарственных препаратах позволяет проводить контроль качества на высокотехнологичном уровне, рассчитана на биологические лекарственные препараты, содержащие в качестве адьюванта гель гидроксида или фосфата алюминия.

Полученные результаты внедрены в научную и практическую деятельность ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (акт внедрения ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России от 07.12.2023) и систематизированы в следующих научно-методических изданиях и проектах нормативных документов федерального уровня (фармакопейных статьях), предназначенных для включения в

Государственную фармакопею РФ: «Руководство по экспертизе лекарственных средств». Том IV.-М.: Полиграф-Плюс, 2014 - 172 с. Глава 8 - «Разработка биоаналогичных (биоподобных) препаратов, содержащих в качестве фармацевтической субстанции интерферон бета», Глава 9 - «Разработка биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов, содержащих в качестве фармацевтической субстанции интерферон альфа»; «Руководство по экспертизе лекарственных препаратов крови», раздел «Рекомбинантные факторы свертывания крови» и общая фармакопейная статья «Факторы свертывания крови человека (генно-инженерные, рекомбинантные)»; «Руководство по экспертизе иммунобиологических лекарственных препаратов» Глава 11 – «Количественное определение аминокислот в иммунобиологических лекарственных препаратах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии гидрофильного взаимодействия» и общая фармакопейная статья «Определение аминокислот в препаратах иммуноглобулинов методом гидрофильного взаимодействия»; «Руководство по экспертизе лекарственных средств для медицинского применения», раздел «Общие требования к экспертной оценке качества лекарственных препаратов на основе рекомбинантных интерферонов альфа, рекомбинантных интерферонов бета и PEG-модифицированных рекомбинантных интерферонов», общие фармакопейные статьи «Интерфероны» и «Пегилированные (конъюгированные) терапевтические белка, полученные с применением технологии рекомбинантной ДНК» и фармакопейная статья «Интерферон человеческий рекомбинантный альфа-2b, субстанция раствор, раствор замороженный»; Руководство «Требования к стандартным образцам в досье на биологические лекарственные средства», раздел 2, подраздел 2.1. «Рекомендации по аттестации стандартных образцов для подтверждения подлинности рекомбинантных терапевтических белков». Разработанный алгоритм аттестации стандартных образцов, предназначенных для оценки подлинности структуры рекомбинантных терапевтических белков, используется АО «Генериум» при разработке индивидуальных программ аттестации стандартных образцов предприятия рекомбинантного фактора свертывания крови VIIa (акт внедрения от 15.09.2021), ООО «НПП «Фармаклон» (акт внедрения от 08.06.2022) и ООО «Фармапарк» (акт внедрения от 20.09.2021) при разработке индивидуальных программ аттестации стандартных образцов предприятия интерферона альфа-2b.

Разработанный и аттестованный стандартный образец предприятия для оценки подлинности аминокислотной последовательности и профиля гликозилирования рекомбинантного седьмого активированного фактора

свертывания крови используется ООО «МБЦ «Генериум» (акт внедрения от 25.04.2019).

Разработанный и аттестованный фармакопейный стандартный образец рекомбинантного интерферона альфа-2b, содержащего N-концевой метионин (ФСО 3.2.00433), применяется ООО «Фармапарк» (акт внедрения от 20.09.2021) и ООО «Фармаклон» (акт внедрения от 30.12.2021).

Разработанный и аттестованный фармакопейный стандартный образец рекомбинантного интерферона альфа-2b, не содержащего N-концевой метионин (ФСО.3.2.00456), применяется ООО «Ферон» (акт внедрения от 22.01.2024). Разработанный и аттестованный фармакопейный стандартный образец рекомбинантного интерферона бета-1b (ФСО 3.2.00447) применяется АО «Генериум» (акт внедрения от 15.09.2021).

Разработанная и валидированная методика определения полисорбата 80 в биологических лекарственных препаратах методом эксклюзионной ВЭЖХ применяется при оценке качества препаратов моноклональных антител по показателю качества «Полисорбат 80» ОА «Генериум» (акт внедрения от 20.02.2024).

Разработанная и валидированная методика селективного определения аминокислот в биологических лекарственных препаратах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии гидрофильного взаимодействия» применяется ОА «Генериум» при оценке качества препаратов терапевтических рекомбинантных белков, в том числе моноклональных антител, по показателям «Количественное содержание аргинина», «Количественное содержание гистидина», «Количественное содержание метионина» (акт внедрения от 22.12.2023).

Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Достоверность результатов, полученных в ходе работы, обеспечивается значительным объемом проведенных исследований, применением комплекса высокотехнологичных физико-химических методов исследования, использованием широкой номенклатуры медицинских биопрепаратов для подтверждения области применения результатов исследования, получением экспериментальных данных в лаборатории, входящей в состав Испытательного центра, имеющего аккредитацию системы менеджмента качества согласно ГОСТ ISO 17025-2019 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий», необходимую для разработки и аттестации стандартных образцов, имеющих статус фармакопейных.

Апробация работы состоялась на заседании Ученого совета Федерального государственного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 8 от 05.12.2023).

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на: II Всероссийской научной конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (Краснодар, 2013); XV Всероссийском форуме с международным участием «Медицинская иммунология» (Санкт-Петербург, 2015); XVI Всероссийском форуме с международным участием «Медицинская иммунология» (Санкт-Петербург, 2017); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность» (Москва, 2020).

Публикации по теме исследования: по материалам диссертации опубликована 31 печатная работа: 18 статей в рецензируемых изданиях, 5 статей в других изданиях, 4 - в материалах конференций, 4 патента на изобретение РФ.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

1. Разработанные фармакопейные требования к оценке подлинности первичной структуры и значимых посттрансляционных модификаций рекомбинантных интерферонов альфа и бета, а также рекомбинантных факторов свертывания крови необходимо использовать 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.

2. Разработанные фармакопейные требования к оценке качества PEG-модифицированных белков необходимо использовать 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.

3. Разработанный алгоритм аттестации стандартных образцов, предназначенных для подтверждения подлинности первичной последовательности и значимых посттрансляционных модификаций рекомбинантных терапевтических белков, необходимо использовать при разработке и аттестации фармакопейных стандартных образцов и

стандартных образцов предприятия; при формировании соответствующих разделов регистрационных досье, предназначенных для проведения регистрационной и пострегистрационной экспертизы; при проведении государственной регистрационной и пострегистрационной экспертизы.

4. Разработанные и аттестованные фармакопейные стандартные образцы для оценки подлинности аминокислотной последовательности рекомбинантных интерферонов альфа-2b содержащих (ФСО.3.2.00433) и не содержащих (ФСО.3.2.00456) N-концевой метионин, а также рекомбинантного интерферона бета-1b (ФСО.3.2.00477) необходимо внедрить на фармацевтических предприятиях, выпускающих соответствующие препараты, при посерийном контроле качества.

5. Разработанную методику высокоэффективной хроматографии гидрофильного взаимодействия для селективного определения аминокислот (глицин, гистидин, метионин, пролин, аргинин, лизин и их смеси) целесообразно внедрить на фармацевтических предприятиях, выпускающих биологические лекарственные препараты, содержащие данные стабилизаторы.

6. Разработанную методику эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения полисорбата 80 целесообразно внедрить на фармацевтических предприятиях, выпускающих биологические лекарственные препараты, содержащие данный стабилизатор.

7. Разработанную методику атомно-абсорбционной спектromетрии с электротермической атомизацией для определения ионов алюминия целесообразно внедрить на фармацевтических предприятиях, выпускающих биологические лекарственные препараты, содержащие в качестве адъюванта гель гидроксида или фосфата алюминия

Соответствие специальности

Диссертация по тематике, методам исследования, научным положениям и выводам соответствует паспорту специальности: 1.5.6 – Биотехнология (п.12 и п.29).

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация изложена на 312 страницах, состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка используемой литературы, приложения. Диссертация содержит 32 таблицы, иллюстрирована 65 рисунками. Список литературы содержит 443 источника: 105 отечественных и 338 иностранных.

В автореферате диссертации Устинниковой О.Б. изложены основные идеи работы и выводы по ней, показан вклад автора в проведенное

исследование, степень новизны и практическая значимость приведенных результатов исследований, содержатся сведения об организации, в которой выполнялась диссертация, об оппонентах и ведущей, организации, о научном консультанте соискателя ученой степени, приведен список публикаций автора диссертации, в которых отражены основные научные результаты исследования.

Диссертация и автореферат оформлены в соответствии с требованиями ГОСТа Р.7.0.11-2011, написаны грамотно, хорошим литературным языком. Встречаются немногочисленные ошибки (опечатки) (на стр. 49, 59, 71, 73, 88, 89, 96), что не снижает общей положительной оценки диссертации.

Анализ материалов, изложенных в диссертации, позволяет сделать заключение о том, что тема диссертации актуальна, научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, **обоснованы** теоретически и экспериментально, их достоверность и новизна не вызывают сомнения. Диссертация обладает внутренним единством и свидетельствует о личном вкладе соискателя в решаемую научную проблему.

В целом, рассматриваемую диссертацию можно охарактеризовать как научно-квалификационную работу, в которой содержится решение важной **научной проблемы** - совершенствование методологии оценки физико-химических показателей качества медицинских биологических лекарственных препаратов на примере рекомбинантных терапевтических белков и ряда широко используемых вспомогательных веществ.

Отзыв рассмотрен и одобрен на заседании проблемной комиссии 48.02 «Диагностика, профилактика и лечение особо опасных инфекционных болезней» (Протокол № 28 от 28.04.2025 г.)

Вопросы

Для расширения дискуссии хотелось бы узнать от авторов работы о дальнейших перспективах их научных исследований.

Заключение

Диссертационная работа Устинниковой Ольги Борисовны на тему «Совершенствование методологии оценки физико-химических показателей качества биологических лекарственных препаратов», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности: 1.5.6. - биотехнология (биологические науки), является законченным научным трудом, в котором на основании теоретического исследования, реализованного путем разработки фармакопейных требований и рекомендаций, и практического исследования, реализованного путем разработки стандартных образцов и унифицированных методик контроля качества, осуществлено решение актуальной научно-практической проблемы

в области обеспечения качества медицинских биотехнологических лекарственных препаратов - усовершенствована методология оценки физико-химических показателей качества медицинских биологических лекарственных препаратов в условиях развития аналитических технологий и гармонизации фармакопейных требований.

По актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Устинниковой Ольги Борисовны соответствует требованиям п. 9-14 Положения «О порядке присуждения 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 её автор, Устинникова Ольга Борисовна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. - биотехнология (биологические науки).

Отзыв составил заместитель директора по экспериментальной и производственной работе Федерального казенного учреждения науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Российская Федерация, г. Саратов, ул. Университетская, 46, 8(8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru), доктор биологических наук, профессор



Никифоров Алексей Константинович

Подпись Никифорова Алексея Константиновича заверяю:
ученый секретарь Федерального казенного учреждения науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Российская Федерация, г. Саратов, ул. Университетская, 46, 8(8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru)
кандидат медицинских наук

Кедрова Ольга Викторовна

«29» апреля 2025 г.