

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук (14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия) ведущего научного сотрудника химико-технологической лаборатории опытно-технологического отдела Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова» Грушевской Любови Николаевны на диссертационную работу Корниловой Ольги Геннадьевны «Теоретическое и экспериментальное обоснование подходов к обеспечению специфической безопасности и стандартизации лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека», представленную на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы исследования

В последние годы список показаний к применению лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека был существенно расширен, что привело к увеличению потребности в этих препаратах, а также к росту интереса к ним со стороны отечественных производителей в связи с импортозамещением.

Вместе с тем применение этих лекарственных препаратов может сопровождаться рядом нежелательных реакций, особой категорией которых являются побочные эффекты, возникающие вследствие активации ряда систем гомеостаза (калликреин-кининовой, плазминовой, свертывающей системы и системы комплемента). Эти эффекты обусловлены влиянием остаточных количеств компонентов плазмы крови человека, не являющихся основным действующим веществом, таких как антиэритроцитарные антитела, факторы свертывания крови, ферменты и др.

Вследствие появления новых данных системы фармаконадзора о нежелательных реакциях регуляторными органами многих стран были изменены требования к производству и качеству лекарственных препаратов из плазмы крови человека, усовершенствованы методы контроля их качества по показателям «Антикомплементарная активность», «Анти-А и анти-В гемагглютинины», «Анти-D антитела», «Активатор прекалликреина».

Российские стандарты качества на лекарственные препараты иммуноглобулина человека и альбумина человека в течение длительного времени не подвергались актуализации и нуждались в серьезной доработке ввиду отсутствия необходимых показателей качества, оценивающих содержание антиэритроцитарных антител, активатора прекалликреина.

Кроме того, существовала необходимость оптимизации и стандартизации существующих методик контроля качества, поскольку на получаемые результаты оказывало значительное влияние происхождение и характеристики применяемых реагентов.

Все вышесказанное обуславливает необходимость разработки современных методологических подходов к стандартизации и оценке качества отечественных лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека и альбумина человека с целью обеспечения безопасности их применения в медицинской практике.

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

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, базируются на достаточно полном обзоре источников научной литературы, большом объеме экспериментальных исследований, выполненных с применением комплекса современных методов и соответствующей статистической обработки, являются обоснованными и логически вытекают из результатов исследования.

Основные положения диссертационного исследования прошли широкую апробацию на российских и международных научно-практических конференциях.

По теме диссертации опубликованы 35 научных работ, в том числе 3 патента на изобретения Российской Федерации и 20 статей – в изданиях, включенных в Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора наук.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность результатов диссертационной работы подтверждается большим объемом экспериментальных данных, полученных с применением широкого спектра методов исследования, а также результатами статистической обработки. В работе представлены первичные данные, иллюстрирующий их графический материал, подробно описаны методы и методики, использованные при проведении исследований.

Новизна выполненных исследований заключается в том, что автором впервые в Российской Федерации разработана методология стандартизации и контроля качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по показателям, способным оказывать влияние на систему комплемента, калликреин-кининовую, плазминовую и свертывающую системы крови.

В результате проведенных автором масштабных исследований была проведена критическая оценка существующих в отечественной и мировой

практике методик определения этих показателей качества, выявлены факторы, влияющие на воспроизводимость методик, обоснованы и внесены необходимые изменения с целью улучшения воспроизводимости, а также унификации с зарубежными методиками.

Гармонизированы методические подходы к стандартизации и контролю качества иммуноглобулинов человека при определении тромбогенного потенциала и оценке риска развития нежелательных реакций методами *in vitro* и *in vivo*. Унифицированы методики определения антикомплементарной активности, содержание анти-А, анти-В гемагглютининов, анти-Д антител, активатора прекалликреина в лекарственных препаратах иммуноглобулинов и альбумина человека.

Впервые разработана методология валидации и проведена валидация методик определения уровня антикомплементарной активности, активатора прекалликреина и гемагглютининов в лекарственных препаратах иммуноглобулинов и альбумина человека.

Впервые разработаны и аттестованы отечественные стандартные образцы содержания анти-А и анти-В гемагглютининов, анти-Д антител, активатора прекалликреина, иммуноглобулина человека (антикомплементарная активность).

Впервые проведено определение принципов и критериев экспертной оценки лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека.

Научная новизна работы подтверждена получением 3 патентов на изобретения РФ (№ 2577703 от 09.02.2015; № 2671415 от 05.06.2017; № 2682714 от 18.12.2017).

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Автором диссертационного исследования обоснована необходимость проведения в Российской Федерации контроля лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по показателям, характеризующим их по риску развития нежелательных реакций, связанных с активацией калликреин-кининовой, плазминовой, свертывающей системы и системы комплемента, определен перечень показателей, нормирование которых необходимо для обеспечения качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека, применяемых в медицинской практике на территории Российской Федерации.

Гармонизирована с международными требованиями методология стандартизации и контроля качества иммуноглобулинов человека по тромбогенному потенциалу. Унифицированы и внедрены в систему контроля качества отечественных препаратов иммуноглобулина методики оценки

содержания анти-А и анти-В гемагглютининов, анти-Д антител, активатора прекалликреина, уровня антикомплементарной активности.

Сформулированы принципы обеспечения воспроизводимости результатов контроля качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по введенным показателям. Экспериментально выявлены критические факторы, влияющие на воспроизводимость разработанных методик. Показана необходимость применения стандартных образцов с целью обеспечения стабильности результатов лабораторных испытаний.

В результате проведенных исследований разработаны и включены в ГФ РФ XIV издания четыре ОФС и две ФС, один проект ОФС рекомендован к включению в приложение ГФ РФ XIV издания: ОФС.1.8.2.0007.15 «Определение антикомплементарной активности лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения»; ОФС 1.8.2.0005.15 «Определение анти-А и анти-В гемагглютининов в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека»; ОФС.1.8.2.0004.15 «Испытание на анти-Д антитела в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека»; ОФС.1.8.2.0013.18 «Определение содержания активатора прекалликреина в лекарственных препаратах из плазмы крови человека»; ФС.3.3.2.0007.15 «Иммуноглобулин человека нормальный»; ФС.3.3.2.0008.15 «Иммуноглобулин человека нормальный для внутривенного введения»; проект ОФС «Определение анти-А и анти-В гемагглютининов в лекарственных препаратах из плазмы крови человека».

Разработаны, аттестованы и внедрены в практику ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и предприятий по производству лекарственных препаратов из плазмы крови человека три стандартных образца:

- ОСО 42-28-430 «Иммуноглобулина человека (антикомплементарная активность)»; ОСО 42-28-439 «Набор для определения содержания анти-А и анти-В гемагглютининов»; ОСО 42-28-440 «Набор для определения содержания анти-Д антител» (Акты о внедрении результата интеллектуальной деятельности №№ 6/ИЗ-2577703 от 20.04.2016, 12/ИЗ-2671415 от 03.12.2018, 13/ИЗ-2682714 от 16.05.2019, Акт о внедрении от 09.01.2020 г.).

Разработаны ОСО 42-28-445 «Набор для определения содержания активатора прекалликреина» и ОСО 42-28-446 «Набор для определения содержания активатора прекалликреина» (в комплекте с прекалликреином).

Результаты исследований по оценке специфической безопасности иммуноглобулинов и альбумина человека включены в «Руководство по экспертизе лекарственных препаратов крови» (Акт внедрения от 28.12.2017 г.).

Разработаны, внедрены в деятельность ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и используются при экспертной оценке препаратов крови человека «Методические рекомендации по экспертной оценке специфической безопасности препаратов крови».

Таким образом, представленная диссертационная работа вносит весомый вклад в разработку методологии и практических аспектов обеспечения качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека, в связи с чем, значимость ее для науки и практики несомненна.

Структура и содержание диссертации

Работа выполнена в соответствии с требованиями ВАК РФ и ГОСТ Р 7.0.11-2011, построена по классическому принципу и включает в себя: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, 6 глав собственных исследований, заключение, выводы, список литературы и приложения. Работа представлена на 301 странице машинописного текста, иллюстрирована 22 рисунками и 52 таблицами. Библиографический указатель включает 260 источников литературы.

Во **Введении** автором доказана актуальность выбранной темы исследований, показана степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи, раскрыта научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, определены методология и методы исследования, степень достоверности результатов, представлены данные об апробации работы и о количестве публикаций.

Обзор литературы посвящен анализу современного состояния проблемы обеспечения безопасности лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека на этапах их производства, стандартизации и контроля качества. В обзоре литературы обозначена позиция лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека на фармацевтическом рынке, проанализирована потребность рынка в отечественных лекарственных препаратах этих групп. Обозначен спектр нежелательных реакций при их применении, в том числе и реакций, которые могут быть обусловлены наличием в лекарственных препаратах остаточных компонентов плазмы крови человека или измененных при производстве или хранении молекул действующего вещества. Представлен подробный обзор технологии производства лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека, как отечественного, так и зарубежного производства, с позиции вероятности появления в готовом продукте указанных нежелательных примесей. Проведен анализ международных и отечественных требований и методик контроля качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека в отношении этих примесей, обозначена проблема обеспечения точности и воспроизводимости результатов существующих методик и способы ее решения в мировой практике, в том числе, и применение стандартных образцов.

В главе «**Материалы и методы исследования**» подробно описаны объекты исследования, использованные стандартные образцы, реагенты, оборудование,

методы, методики и критерии оценки полученных результатов, а также программы и формулы их статистической обработки.

Представлено подробное описание используемых методов оценки уровня антикомплементарной активности (реакция связывания комплемента), содержания антиэритроцитарных антител (реакции гемагглютинации), содержания активатора прекалликреина (реакции амидолитического расщепления хромогенного субстрата), а также характеристики клоттинговых и хромогенных методов оценки содержания факторов свертывания крови.

В **Главе 3** «Обоснование методологии стандартизации и контроля качества иммуноглобулинов и альбумина человека по специфической безопасности» представлена характеристика самого понятия «специфическая безопасность», сформулированы и обоснованы методологические подходы к стандартизации и контролю качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по специфической безопасности.

Глава 4 «Разработка методических основ стандартизации и контроля качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека по тромбогенному потенциалу» посвящена обоснованию критериев оценки тромбогенного потенциала лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека и унификации методик, применимых для этих целей. Представлены результаты изучения тромбогенного потенциала пяти наименований препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения отечественных производителей и двух наименований – зарубежного производства по содержанию прокоагулянтных факторов свертывания крови, эндогенному тромбиновому потенциалу, изменению частичного тромбопластинового времени.

Также в **Главе 4** представлены результаты оценки тромбогенного потенциала препаратов иммуноглобулинов человека *in vivo* с помощью разработанной автором методики на модели S.Wessler и установлена способность к тромбообразованию препаратов иммуноглобулинов трех (из четырех исследованных) наименований при внутривенном введении кроликам.

Глава 5 «Экспериментальные исследования по разработке методик контроля качества препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по специфической безопасности» содержит описание результатов исследований по разработке унифицированных методик контроля качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека по антикомплементарной активности, содержанию антиэритроцитарных антител, а также методик контроля качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по содержанию активатора прекалликреина.

При разработке унифицированной методики определения антикомплементарной активности автором была изучена возможность применения реагентов (гемолитической сыворотки, крови бараньей, комплемента морских

свинок) различных производителей и обоснован их выбор с позиции приемлемости получаемых результатов и доступности реагентов на территории Российской Федерации. Установлены критерии пригодности реагентов для определения антикомплементарной активности. Показана возможность оценить уровень антикомплементарной активности лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека отечественных производителей в соответствии с международными требованиями.

Проведена унификация методик Европейской фармакопеи по определению содержания анти-А и анти-В гемагглютининов методом прямой гемагглютинации с учетом доступности реагентов на территории Российской Федерации. Оптимизированы условия и разработана методика определения содержания анти-А и анти-В гемагглютининов методом непрямой гемагглютинации с применением отечественных реагентов. Разработана методика определения анти-Д антител в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека методами гемагглютинации «на плоскости» и в геле, с применением гелевой карты. Изучено содержание анти-А, анти-В гемагглютининов и анти-Д антител в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека отечественных и зарубежных производителей. При анализе препаратов зарубежного производства показано соответствие результатов, полученных с помощью методик, используемых зарубежными производителями с результатами разработанных автором методик.

На основе описанного в Европейской фармакопее хромогенного метода, разработаны методики определения содержания активатора прекалликреина в лекарственных препаратах иммуноглобулинов и альбумина человека. Определены оптимальные условия проведения испытания, изучена возможность применения коммерческих реагентов прекалликреина различных производителей. Определено содержание активатора прекалликреина в лекарственных препаратах альбумина и иммуноглобулинов человека отечественного и зарубежного производства. При анализе препаратов зарубежного производства показано отсутствие статистически значимых различий между результатами, полученными с помощью методик, используемых производителями, и результатами разработанных автором методик.

Глава 6 «Валидация методик оценки специфической безопасности препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека» содержит обоснование методологии валидации методик, основанных на иммунобиологических реакциях, а также разработку алгоритмов и валидацию методик определения содержания анти-А и анти-В гемагглютининов, анти-Д антител, антикомплементарной активности и активатора прекалликреина. Результаты проведенной валидации подтверждают их пригодность для целей контроля качества рассматриваемых препаратов.

В главе 7 «Исследования по стандартизации лекарственных препаратов

иммуноглобулинов и альбумина человека по специфической безопасности» автором обоснована необходимость применения и разработки стандартных образцов для определения антикомплемментарной активности, содержания анти-А и анти-В гемагглютининов, анти-Д антител и активатора прекалликреина, обоснованы составы стандартных образцов, изложены результаты их разработки и аттестации.

Автором обоснованы и экспериментально подтверждены принципы обеспечения воспроизводимости результатов контроля качества отечественных препаратов крови по указанным показателям и показана эффективность применения разработанных стандартных образцов.

Глава 8 «Разработка методологии экспертной оценки специфической безопасности лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека» содержит принципы и критерии экспертной оценки специфической безопасности лекарственных препаратов из плазмы крови человека, которые легли в основу «Методических рекомендаций по экспертной оценке специфической безопасности препаратов крови», обеспечивающих проведение экспертизы материалов регистрационного досье препаратов крови человека по специфической безопасности в соответствии с национальными стандартами и международными требованиями.

В Заключение даны краткие итоги проведенного исследования.

Практические рекомендации четко сформулированы и представляются значимыми для использования в повседневной деятельности экспертного учреждения.

Общие выводы диссертационной работы полностью отражают полученные результаты и соответствуют поставленным задачам исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

В связи с высокими современными требованиями к безопасности лекарственных средств и, в частности, лекарственных препаратов крови человека, тема диссертационного исследования представляется чрезвычайно актуальной.

Диссертационная работа построена логично, представленный материал теоретических и экспериментальных исследований полностью соответствует выбранной цели и поставленным задачам.

При изучении современного состояния проблемы обеспечения качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека автором выполнен подробнейший аналитический обзор научной литературы, позволивший четко обозначить основные направления будущих исследований и актуальные вопросы, требующие решения.

Обращает на себя внимание глубина проработки выбранной темы

исследования, широчайший арсенал методов, использованных при получении экспериментального материала, высокая профессиональная эрудиция автора диссертационной работы.

Предложенные автором методические подходы к исследуемым проблемам и алгоритмы решения конкретных задач абсолютно обоснованы, обладают исчерпывающей полнотой и, безусловно, будут полезны при их практическом применении.

Несомненным достоинством выполненной Корниловой О.Г. работы является не только весьма значимый вклад в осуществление стандартизации и контроля качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека с целью обеспечения безопасности их применения, но и формулировка принципов и критериев экспертизы материалов регистрационных досье на эти лекарственные препараты по показателям специфической безопасности.

Диссертационная работа Корниловой О.Г. является завершенным научным трудом и производит положительное впечатление.

Вместе с тем при прочтении представленной работы возник ряд замечаний и вопросов, не имеющих, однако, принципиального характера и не снижающих научной и практической ценности работы:

1. После прочтения диссертации создается ощущение, что понятие специфической безопасности сформулировано несколько неоднозначно. В тексте диссертации имеется утверждение, которое определяет специфическую безопасность как фактор, характеризующий риски причинения вреда здоровью, обусловленные влиянием на системы гемостаза и комплемента, калликреин-кининовую систему и эритроцитарное звено системы гомеостаза. При описании экспериментальных исследований термин «специфическая безопасность» используется для обозначения группы показателей, нормирующих качество лекарственных препаратов и рекомендуемых для включения в нормативную документацию. В связи с этим возникает вопрос об истинном объеме понятия «специфическая безопасность»: может ли специфическая безопасность, исходя из ее определения, быть полностью охарактеризована рядом показателей качества лекарственных препаратов?
2. На основании каких данных были установлены критерии оценки тромбогенного потенциала (максимальное количество тромбина и латентный период в тесте генерации тромбина, активность факторов свертывания и др.)? Как установлены пределы и нормы?
3. Почему при нормировании латентного периода (лаг-фазы) в тесте генерации тромбина была установлена норма «не менее 11 мин», тогда как по

представленным литературным данным нежелательные реакции в виде тромбоэмболии наблюдались при значениях времени латентного периода от 7 до 15 мин?

Заключение:

Таким образом, диссертация Корниловой Ольги Геннадьевны на тему «Теоретическое и экспериментальное обоснование подходов к обеспечению специфической безопасности и стандартизации лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук является законченной научно-квалификационной работой, имеющей важное медицинское и социальное значение, в которой осуществлено решение актуальной научной проблемы – разработки методических подходов к обеспечению качества, а также разработки унифицированных методик и принципов стандартизации лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по показателям специфической безопасности, имеющей важное народнохозяйственное значение, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335; от 01.10.2018 г. № 1168), а её автор, Корнилова О.Г., заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Ведущий научный сотрудник химико-технологической лаборатории опытно-технологического отдела Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», доктор фармацевтических наук (специальность 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия)

Грушевская Любовь Николаевна

« 10 » декабря 2020 г.

125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8
+7(495) 601-24-17, e-mail: otopharm@mail.ru

Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России № 662 от 01.07.2015 г.), необходимых для работы диссертационного совета Д 208.068.02

Подпись Грушевской Любови Николаевны заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ
«НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»,
кандидат биологических наук

Крайнева Валентина Александровна

