

## ОТЗЫВ

**официального оппонента, доктора фармацевтических наук (14.04.01 – Технология получения лекарств), начальника управления научных разработок, стандартизации и внедрения АО «Научно-производственного объединения по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» Зубковой Наталии Васильевны на диссертационную работу Корниловой Ольги Геннадьевны «Теоретическое и экспериментальное обоснование подходов к обеспечению специфической безопасности и стандартизации лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека», представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия**

### **Актуальность темы исследования**

Лекарственные препараты альбумина и иммуноглобулинов, получаемые из донорской плазмы, широко применяются в клинической практике для терапии угрожающих жизни состояний, иммунодефицитов, бактериальных и вирусных инфекций, аутоиммунных заболеваний, причем часто клиницисты назначают их в больших дозах путем введения непосредственно в кровяное русло, что требует особых подходов к обеспечению их качества и безопасности.

В течение последнего десятилетия наметилась тенденция к увеличению объема потребления препаратов альбумина и иммуноглобулинов, что обусловлено как расширением существующих, так и появлением новых показаний к применению, прежде всего внутривенных иммуноглобулинов. Однако расширение области их применения, увеличение диапазона терапевтических доз может сопровождаться возникновением нежелательных реакций, связанных с активацией ряда систем гомеостаза, в том числе комплемента, калликреин-кининовой, плазминовой и свертывающей систем, которые до настоящего времени не были достаточно изучены.

Наличие этих свойств в лекарственных препаратах альбумина и иммуноглобулинов может быть обусловлено неэффективной очисткой целевых белков от других белков плазмы крови человека, возникновением денатурации или конформационных изменений молекул под действием этилового спирта и

химических реагентов, накоплением эндотоксинов из-за микробной контаминации и по другим причинам.

Задача производителей минимизировать данные риски, оптимизировать технологический процесс, определить критерии качества и стандартизовать параметры показателей качества. Не менее важной задачей является гармонизация требований к качеству препаратов с таковыми мировых стандартов, включая определение показателей качества для каждой лекарственной формы, нормирование содержания допустимых примесей, разработку методологических подходов к стандартизации и валидации методов химического, физико-химического и биологического анализов.

Своевременным направлением стала разработка отечественных фармакопейных стандартов качества иммуноглобулинов и альбумина человека, а также пересмотр имеющихся фармакопейных статей ФС 42-3159-95 «Иммуноглобулин человека нормальный для внутривенного введения», ФС 42-3198-95 «Иммуноглобулин человека нормальный», с включением в них показателей качества по определению содержания анти-А и анти-В гемагглютининов, анти-D антител, активаторапрекалликреина, а также методов их определения, гармонизированных с международными требованиями.

Важным этапом контроля качества лекарственных препаратов на этапе их производства и последующего жизненного цикла является использование стандартных образцов. Разработка стандартных образцов, являющихся эталоном количественной характеристики биологических примесей, сопряжено с трудностями разработки стандартизованной технологии их получения, определения программы аттестации, а также установлением соответствующих метрологических характеристик. Такая работа требует соответствующего научно-методического сопровождения.

Диссертационная работа Корниловой О.Г. посвящена разработке и обоснованию подходов к обеспечению специфической безопасности и стандартизации лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека, что полностью соответствует паспорту специальности 14.04.02 –

Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

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

Высокая степень обоснованности полученных данных и выводов диссертации не вызывает сомнения, и подтверждает правильность выбора методических подходов. Применимость разработанных методик подтверждена валидационными исследованиями. В работе проанализирован достаточный объем литературных источников отечественных и иностранных авторов. Для всех данных использованы методы статистической обработки полученных результатов в соответствии с ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента», ОФС.1.1.0014.15 «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами» ГФ РФ, что позволило сформулировать адекватные и объективные выводы.

### **Достоверность полученных результатов**

Степень достоверности полученных данных основана на использовании большого фактического материала, с применением современных информативных иммунобиологических методов исследования, базирующихся на использовании современного оборудования.

### **Новизна исследования**

Впервые соискателем дано определение специфической безопасности применительно к лекарственным препаратам крови, связанной с активацией системы комплемента, калликреин-кининовой, плазминовой и свертывающей систем человека.

Научно обоснована разработанная методология стандартизации специфической безопасности иммуноглобулинов и альбумина человека, обусловленная активацией ряда систем гомеостаза. Новыми являются данные по гармонизации методических подходов к стандартизации и контролю качества иммуноглобулинов человека при определении тромбогенного

потенциала и оценке риска развития нежелательных реакций методами *in vitro* и *in vivo* по определению в них уровня тромбогенного потенциала. Особенno важны эти данные при планировании доклинических исследований при разработке новых технологических решений для выделения иммуноглобулина и/или новых лекарственных форм препаратов.

Высокой степени научной новизны отвечают унифицированные методики определения специфической безопасности (антикомплентарная активность, содержание анти-А, анти-В гемагглютининов, анти-D антител, активатора прекалликреина) в иммуноглобулинах и альбумине человека.

Требованиям научной новизны отвечают исследования по разработке и аттестации стандартных образцов содержания анти-А и анти-В гемагглютининов, анти-D антител, активатора прекалликреина иммуноглобулина человека (антикомплентарная активность) и определения принципов и критериев экспертной оценки иммуноглобулинов и альбумина человека.

Научная новизна работы подтверждена получением трех 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**

Работа имеет большой теоретический и практический выходы. При непосредственном участии автора разработаны:

1. Унифицированные методики оценки содержания анти-А и анти-В гемагглютининов, анти-D антител, уровня антикомплентарной активности, которые внедрены в систему качества отечественных лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека.

2. Материалы исследования использованы при составлении следующих фармакопейных стандартов качества:

- ОФС.1.8.2.0007.15 «Определение антикомплентарной 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-D антитела в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека»;
- ОФС.1.8.2.0013.18 «Определение содержания активатора прекалликреина в лекарственных препаратах из плазмы крови человека»;
- проекта ОФС «Определение анти-А и анти-В гемагглютининов в лекарственных препаратах из плазмы крови человека».
- фармакопейных статей ФС.3.3.2.0007.15 «Иммуноглобулин человека нормальный»; ФС.3.3.2.0008.15 «Иммуноглобулин человека нормальный для внутривенного введения»), включенных ГФ РФ XIV издания;

3. 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-D 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», ОСО 42-28-446 «Набор для определения содержания активатора прекалликреина» (в комплекте с прекалликреином).

4. «Методические рекомендации по экспертной оценке специфической безопасности препаратов крови» и «Руководство по экспертизе лекарственных препаратов крови» внедрены в деятельность ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и используются при экспертной оценке препаратов крови человека (Акт внедрения от 28.12.2017 г.).

**Связь диссертационной работы с планом  
соответствующей отрасли науки**

В диссертационной работе автором научно обосновано и экспериментально подтверждено решение проблемы обеспечения специфической безопасности и стандартизации лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека, что соответствует пунктам 2 и 3 области исследований, а именно:

- формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую эффективность и безопасность лекарственных средств;
- разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.

### **Личный вклад автора**

Автору принадлежит основная роль в выборе научного направления работы, постановке цели и задач исследования, обосновании выбора оптимальных путей их решения, планировании и непосредственном выполнении экспериментальных исследований, анализе полученных результатов, формулировке общих выводов, разработке общих фармакопейных статей и фармакопейных статей, внедрении результатов исследований, подготовке докладов и оформлении научных публикаций, а также рукописи диссертации и автореферата.

Личный вклад автора является определяющим и состоит в непосредственном участии на всех этапах выполнения и оформления диссертационной работы.

### **Апробация результатов исследования**

Основные положения теоретических и экспериментальных исследований представлены и обсуждены на XV Всероссийском научном форуме с международным участием им. акад. В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2015); Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Достижения современной фармакологической науки» (Рязань, 2015), I Калининградском Научном

иммунологическом форуме (Калининград, 2016 г), XIV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2017 г), XVI Всероссийском научном форуме «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2017 г), V съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль, 2018 г), III международной научной конференции «Стандартные образцы в измерениях и технологиях» (Екатеринбург, 2018 г), IV Объединенном иммунологическом форуме (Новосибирск, 2019 г.) и других

По теме диссертации опубликовано 35 научных работ, в том числе 3 патента на изобретения Российской Федерации; 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.

### **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации**

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

Обзор литературы в полном объеме отражает современное состояние проблемы обеспечения качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека. Проведенный анализ позволил автору структурировать и выявить взаимосвязь характеристик указанных лекарственных препаратов с вызываемыми ими нежелательными реакциями при инфузационной терапии (глава 1). Корниловой О.Г. изучены мировые достижения в области стандартизации и контроля качества препаратов из плазмы крови человека, критически проанализированы отечественные стандарты и выделены основные направления исследований, направленные на решение актуальной проблемы -

обеспечения специфической безопасности и стандартизации лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» содержит информацию об объектах исследования - лекарственных препаратах иммуноглобулинов и альбумина человека отечественного и зарубежного производства, а также реагентах, материалах и стандартных образцах, используемых для контроля качества указанных лекарственных препаратов, для разработки и аттестации стандартных образцов. Детально описаны иммунобиологические методы оценки уровня антикомплémentарной активности, содержания антиэритроцитарных антител, содержания активатора прекалликреина, 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» автором на основе теоретических исследований обоснованы структурные элементы методологии и методологических подходов к стандартизации и контролю качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по специфической безопасности. Глубокая проработка взаимосвязи технологических аспектов, качественного и количественных характеристик рассматриваемых препаратов и вопросов безопасности их применения позволила автору обосновать понятие специфической безопасности применительно к препаратам крови.

В главе 4 «Разработка методических основ стандартизации и контроля качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека по тромбогенному потенциальному» автором установлены критерии оценки тромбогенного потенциала лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека, проведены исследования по унификации методик, применимых для этих целей и изучен тромбогенный потенциала образцов препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения отечественного и зарубежного производства по содержанию прокоагулянтных факторов свертывания крови,

эндогенному тромбиновому потенциалу, изменению частичного тромбопластинового времени. Исследования по обоснованию методики и оценке тромбогенного потенциала препаратов иммуноглобулинов человека *in vivo* позволили автору установить способность к тромбообразованию образцов трех (из четырех изученных) наименований препаратов иммуноглобулинов человека при внутривенном введении кроликам.

Глава 5 «Экспериментальные исследования по разработке методик контроля качества препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по специфической безопасности» посвящена экспериментальным исследованиям по разработке унифицированных методик контроля качества препаратов иммуноглобулинов человека по антисывороточным активностям, содержанию антиэритроцитарных антител, а также методик контроля качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по содержанию активатора прекальликреина. На основании полученных результатов автором предложены методы контроля качества рассматриваемых препаратов в составе проектов общих фармакопейных статей.

В главе 6 «Валидация методик оценки специфической безопасности препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека» автором обоснованы алгоритмы валидации разработанных методик контроля лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по показателям специфической безопасности. Представлены результаты валидационных исследований, которые подтверждают их пригодность для целей контроля качества рассматриваемых препаратов.

Глава 7 «Исследования по стандартизации лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по специфической безопасности» содержит объемный материал экспериментальных исследований по разработке стандартных образцов, применимых для контроля качества лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека. Автором обоснованы тактика разработки стандартных образцов, критерии выбора кандидатов в стандартные образцы. Разработаны и аттестованы стандартные образцы: 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-D антител», ОСО 42-28-445 «Набор для определения содержания активатора прекалликреина», ОСО 42-28-446 «Набор для определения содержания активатора прекалликреина» (в комплекте с прекалликреином).

Глава 8 «Разработка методологии экспертной оценки специфической безопасности лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека» посвящена разработке методологии экспертной оценки специфической безопасности лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека. Проведенные теоретические и экспериментальные исследования позволили автору установить принципы и критерии, обеспечивающие проведение экспертизы материалов регистрационного досье препаратов крови человека по специфической безопасности в соответствии с национальными стандартами и международными требованиями.

Общие выводы, сформулированные автором, соответствуют проведенным исследованиям и подтверждают выполнение поставленных задач. Практические рекомендации применимы в повседневной деятельности экспертного учреждения. Резюмируя, можно заключить, что представленная диссертация является завершенным научным трудом.

Тем не менее, при изучении представленной диссертации возник ряд вопросов и замечаний:

1. По какому принципу в новый термин “специфическая безопасность”, впервые предложенный автором, включены только характеристики препаратов, включающие определение гемагглютининов, анти-D антител, антикомплементарной активности, активатора прекалликреина, факторов свертывания, при этом не исследовались влияние содержания иммуноглобулина А, бактериальных эндотоксинов, молекулярного состава, других белков

плазмы крови, которые как известно также могут причинить вред здоровью, связанного с влиянием на систему гемостаза.

2. Недостаточно много внимания в работе уделено технологии изготовления и\или принципам отбора кандидатов в стандартные образцы, а также статистическим методам обработки аналитических данных. Например, считаю недостаточным обоснование, почему прогрев и денатурирующее воздействие на иммуноглобулин G приводит к контролируемому росту антикомплементарной активности внутривенных препаратов иммуноглобулина.

3. Чем обосновано добавление фактора XIIa в качестве компонента для оценки содержания активатора прекалликреина.

4. Почему не применен метод “параллельных линий” при статистической обработке результатов аттестации отраслевых стандартов (ОСО) относительно международных стандартных образцов (МСО).

5. Имеют ли разработанные автором ОСО официальный статус фармакопейных стандартных образцов? Могут ли быть использованы производителями препаратов из плазмы крови эти ОСО для стандартизации и валидации соответствующих методов контроля.

6. Планируется ли разработка методических рекомендаций по оценке тромбогенного потенциала препаратов альбумина и иммуноглобулинов в рамках фармацевтической разработки и проведении доклинических исследований (ДКИ)? Считаю важным и перспективным применение данного подхода при проведении ДКИ этих препаратов.

7. Несмотря на то, что работа написана хорошим научным языком, есть неудачные фразы и выражения, а также много не общепринятых сокращений, что может затруднить восприятие материала.

### 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 социально-экономическое значение, в которой осуществлено решение актуальной научной проблемы – обеспечение специфической безопасности и стандартизации лекарственных препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека по 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 заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

доктор фармацевтических наук (14.04.01 – Технология получения лекарств),  
начальник управления научных разработок, стандартизации и внедрения  
АО «Научно-производственное объединение по медицинским  
иммунобиологическим препаратам «Микроген»

«14» декабря 2010 г.

Зубкова Наталия Васильевна



127473, Москва, 2-й Волконский переулок, д.10  
тел.+7(495)790-77-73, e-mail n.v.zubkova@microgen.ru

Подпись доктора фармацевтических наук Зубковой Наталии Васильевны «заверяю»

Начальник управления  
по работе с персоналом

Н.Ю. Ханина

Коммерческий директор

А.А. Чичерин