

## ОТЗЫВ

официального оппонента исполняющего обязанности заведующего кафедрой фармациии и химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, профессора Петрова Александра Юрьевича на диссертационную работу Беляковой Ольги Валерьевны «Разработка и использование лиофилизированной формы вакцины для профилактики инфекции, вызываемой *Haemophilus influenzae* тип *b*, в составе комбинированных вакцин», представленную в диссертационный совет Д 208.068.02 при ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств

### 1. Актуальность темы диссертации

Инфекция, обусловленная *Haemophilus influenzae* тип *b* (Hib), - одно из наиболее часто встречающихся заболеваний у детей раннего возраста, как в России, так и за рубежом. Гемофильная инфекция у новорожденных, грудных детей и детей раннего возраста является основной причиной гнойных менингитов, среднего отита, различных заболеваний дыхательных путей (пневмония, бронхит, эпиглоттит) и конъюнктивита.

Важным свойством возбудителя гемофильной инфекции является способность генерировать резистентность к антибактериальным средствам, например, к сульфаниламидам, пенициллину, аминогликозидам, эритромицину, тетрациклину. В связи с этим единственным надежным средством специфической профилактики этого заболевания является активная иммунизация.

На протяжении нескольких десятилетий для профилактики Hib-инфекции успешно применяются конъюгированные вакцины. В последние годы активно разрабатывают и внедряют комбинированные вакцины, содержащие антигены нескольких возбудителей.

Применение медицинских иммунобиологических препаратов, получаемых с помощью методов современной биотехнологии и направленных на профилактику инфекционных заболеваний у детей, определяет повышенные требования к их эффективности и безопасности. В связи с этим разработка методических основ контроля качества вакцинных препаратов с использованием современных валидированных физико-химических, иммунохимических и биологических методов является актуальным.

Диссертация Беляковой О.В. посвящена решению актуальной задачи по разработке и стандартизации лиофилизированной формы вакцины для профилактики инфекции, вызываемой *Haemophilus influenzae* тип *b*, а также исследованию возможности ее применения в составе комбинированных вакцин.

## **2. Достоверность и новизна результатов и выводов**

Достоверность научных результатов и выводов, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнения и определяется значительным объемом проведенных экспериментов, а также использованием представительного спектра современных физико-химических, иммунологических и биологических методов исследования и их адекватной статистической оценкой. В работе использовано современное сертифицированное оборудование с высокими функциональными возможностями.

Оценивая новизну проведенного исследования, представляется необходимым отметить следующие ключевые моменты: автором впервые разработан состав и технология получения лиофилизированной формы вакцины для профилактики инфекции, вызываемой *Haemophilus influenzae* тип *b* (Hib-вакцина), на основе субстанции синтетического полирибозилрибитола фосфата, конъюгированного со столбнячным анатоксином. Установлено, что при включении Hib-компонента в состав комбинированных вакцин для профилактики дифтерии, столбняка, коклюша и гепатита В сохраняется иммунологическая активность каждого из компонентов, а иммуногенность Hib-компонента в составе комбинации значительно выше в сравнении с моновакциной. Кроме того автором впервые разработан и запатентован способ определения примесей в субстанции Hib,

использующихся при ее производстве (этилендиаминтетрауксусной кислоты, диметилсульфоксида и N-этилмалеимида), методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии.

### **3. Ценность полученных результатов для науки и практики**

Диссертационное исследование О.В. Беляковой органично сочетает фундаментальный и практически ориентированный аспекты. В результате проведенных исследований разработаны методические подходы к контролю качества лиофилизированной Н1b-вакцины. Практически ориентированным результатом является разработанная диссертантом технология лиофилизированной Н1b-вакцины на основе субстанции синтетического полирибозилрибитола фосфата, конъюгированного со столбнячным анатоксином. Разработанная технология апробирована в цехе вакцинно-сывороточных препаратов филиала АО «НПО «Микроген» в г. Пермь «Пермское НПО «Биомед». Изготовлены три экспериментально-производственных серий лиофилизированной Н1b вакцины, которые были включены в состав комбинированных вакцин АКДС-ГепВ+Н1b и аАКДС-ГепВ+Н1b (по три серии каждой вакцины, акты внедрения от 21.03.2018 и 28.03.2018 соответственно), прошедших клинические испытания.

### **4. Содержание диссертации**

Диссертация О.В. Беляковой изложена на 185 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов, обсуждения полученных данных и выводом. Диссертация достаточно полно иллюстрирована 66 таблицами и 21 рисунком, а также содержит исчерпывающий список цитируемой литературы по обсуждаемому вопросу, включающий 191 наименований работ, в том числе 56 отечественных и 135 зарубежных авторов.

*Введение* содержит доказательство актуальности выбранной тематики. Этот раздел также включает формулировку цели и задач работы, а также обоснование решения поставленных задач, научную новизну работы и ее практическую значимость. Представлены основные положения, выносимые на защиту, и другие формальные признаки диссертационной работы.

*Обзор литературы* четко структурирован и содержит исчерпывающую информацию о состоянии исследуемого вопроса, основные сведения о гемофильной инфекции, ее возбудителе *Haemophilus influenzae* тип *b* и клинических проявлениях. Представлена характеристика вакцинных препаратов, используемых для профилактики Hib-инфекции. Автором достаточно полно рассмотрена методология оценки качества активных фармацевтических субстанций и готовой лекарственной формы вакцины для профилактики гемофильной инфекции. Показана перспективность применения комбинированных вакцин и возможные трудности, возникающие при их создании.

Обзор литературы является достаточно полным, он аргументирует необходимость проведения данного исследования и соответствует целям и задачам диссертации.

*Материалы и методы* изложены достаточно подробно для того, чтобы получить представление о проведении экспериментов. Используемые в работе реагенты не вызывают сомнений в отношении качества и адекватны для решения поставленных задач.

*Результаты собственных исследований* изложены последовательно, отражают поставленные автором задачи и сопровождаются критической оценкой полученных экспериментальных данных.

**В главе 3** автором изложены результаты оценки качества активной фармацевтической субстанции синтетического полирибозилрибитола фосфата, конъюгированного со столбнячным анатоксином. Определены основные фармакопейные показатели качества субстанции Hib. Представлены данные по разработке хроматографической методики определения содержания примесей этилендиаминтетрауксусной кислоты, диметилсульфоксида и N-этилмалеимида, используемых при производстве субстанции. Проведен контроль субстанции по показателям: «Распределение по размеру молекул», «Содержание полирибозилрибитола фосфата», «Содержание свободного полирибозилрибитола фосфата», «Остаточные функциональные группы», «Подлинность». Результаты валидации аналитических методик позволяют рекомендовать их для контроля

качества субстанции Ніб. Материал изложен грамотно и последовательно, содержит достаточное количество таблиц и иллюстрированного материала, подтверждающих достоверность выполненных экспериментов. Полученные результаты свидетельствуют, что исследуемые серии субстанции отвечают отечественным и международным требованиям. Отражено, что установлены нормы качества и разработан проект спецификации на субстанцию Ніб, используемую для получения вакцины.

**В главе 4** описаны этапы разработки состава и технологии лиофилизированной лекарственной формы Ніб-вакцины. В ходе исследований по разработке лекарственной формы препарата был подобран оптимальный состав защитной среды, включающий 8,5% сахарозы в 0,01М натрий-фосфатном буфере. Отработан режим лиофильного высушивания. Технология Ніб-вакцины включает стадии приготовления раствора полуфабриката, стерилизующей фильтрации, розлива, лиофильного высушивания, герметизации и отбраковки. В соответствии с разработанной технологией получены 6 серий Ніб-вакцины, объемом 1500 доз каждая. Проведена стандартизации препарата и определены основные показатели качества готовой лекарственной формы Ніб-вакцины. Представлены данные по разработке и валидации методики оценки специфической активности Ніб-вакцины по содержанию полирибозилрибитола фосфата. В исследованиях стабильности препарата методом ускоренного старения и в долгосрочных испытаниях при температуре хранения от 2 до 8 °С показано, что в течение 3 лет хранения при температуре от 2 до 8 °С качество вакцины сохраняется и соответствует предъявляемым требованиям.

На основании установленных норм качества автором был разработан проект спецификации лиофилизированной формы Ніб-вакцины.

**Глава 5** содержит результаты лабораторно-экспериментальных исследований разработанного препарата. В качестве основных результатов доклинического исследования лиофилизированной Ніб-вакцины отмечено отсутствие его токсических свойств.

**В главе 6** представлены экспериментальные доказательства совместимости



пяти компонентов дифтерийного, столбнячного, коклюшного, гепатитного и гемофильного в составе комбинированных вакцин АКДС-Геп В+Ніb и аАКДС-Геп В+Ніb.

*Выводы* диссертации вытекают из результатов проведенных исследований автора, четко сформулированы, обоснованы и достоверны.

С точки зрения оппонента, полученные результаты имеют высокую значимость, так как являются весомым вкладом в развитие фармацевтической науки.

*Приложения* к диссертации содержат данные, подтверждающие практическую значимость работы.

При ознакомлении с содержанием диссертационной работы возникли некоторые вопросы, носящие, в целом, дискуссионный характер и, но требующие разъяснения:

1. Глава 5 получилась какая-то куцая и хотя, наверное она нужна, мне кажется стоило или создать главу с обоснованием дизайна исследования или включить эту главу в 4 или 6.

2. Для стабилизации микроорганизмов и клеточных структур при лиофильном высушивании часто применяют антиоксиданты. Пробовали ли Вы вводить их в состав защитной среды и если пробовали, то какие конкретно?

3. После окончания процесса сушки ампулы в токе стерильного воздуха герметизируются. Почему не использовать стерильный азот, тогда вероятность окислительного повреждения субстанции снизится?

4. На стр. 103 в таблице 38, да и в некоторых последующих таблицах изучается остаточная влажность препарата. В главе 2 есть раздел потеря в массе при высушивании. Не очень понятно при какой температуре и как конкретно определяли остаточную влажность – можно высушиванием, можно с помощью ИК, можно ЯМР, можно титрованием по Фишеру. И следует ожидать, что каждый из этих методов даст различные результаты. Почему Вы не использовали метод термогравиметрии для изучения кинетики потери влаги в препарате, тогда вполне обоснованно можно предложить конкретную температуру сушки до постоянной

массы.

Существенных недостатков у представленной диссертационной работы не выявлено, а указанных частные замечания не изменяют ее общую положительную оценку.

**5. Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению диссертации, оценка научной работы соискателя в целом.**

Диссертационная работа носит законченный характер, результаты достаточно полно отражены в рисунках и сводных таблицах, позволяющих ориентироваться в массиве представленных данных.

**6. Опубликование результатов диссертации в научной печати.**

Результаты диссертации О.В. Беляковой опубликованы в 11 печатных работах, в том числе 4 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК РФ для публикации материалов диссертационных исследований, а также широко обсуждены на научных конференциях. Кроме того, получен 1 патент на изобретение.

**7. Соответствие содержания автореферата содержанию диссертации.**

Содержание и оформление автореферата соответствуют требованиям ВАК Минобрнауки РФ и в достаточной мере отражают основные положения диссертации, замечаний нет.

**Заключение.** Диссертационная работа Беляковой Ольги Валерьевны «Разработка и использование лиофилизированной формы вакцины для профилактики инфекции, вызываемой *Haemophilus influenzae* тип *b*, в составе комбинированных вакцин», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств, является самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержатся решения актуальных задач современной фармации.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Беляковой Ольги Валерьевны соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого

Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, а ее автор, Белякова Ольга Валерьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств.

Официальный оппонент:

Исполняющий обязанности  
заведующего кафедрой фармации и  
химии федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждение высшего образования  
«Уральский государственный  
медицинский университет»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации,  
доктор фармацевтических наук  
(15.00.01 – технология лекарств и  
организация фармацевтического дела),  
профессор по кафедре фармации

Петров Александр Юрьевич

620028, г. Екатеринбург, Свердловская область, ул. Репина, 3, (343)–214-85-20,  
[uniitmp@yandex.ru](mailto:uniitmp@yandex.ru)

«03» декабря 2018 г.

Подпись профессора д.ф.н. Петрова А.Ю. заверяю.

Начальник управления кадровой политики и правового обеспечения ФГБОУ ВО  
УГМУ Минздрава России



С.В.Чупракова