



АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ПО БЕЗОПАСНОСТИ
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ»
АО «ВНЦ БАВ»

142450, г. Старая Купавна,
Ногинского района,
Московской области,
ул. Кирова, 23

Телефон (495) 702-96-37
Факс/тел (495) 702- 95-86
E-mail: vncbav@bk.ru
www.vncbav.ru



"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор АО «ВНЦ БАВ»

А.В. Коротоножкин

06 » августа 2018

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертационной работы

Шаповаловой Ольги Владимировны на тему: "Разработка методических подходов для определения содержания бактериальных эндотоксинов в фармацевтических субстанциях",

представленной в объединенный диссертационный совет Д 999.197.03 на базе федерального государственного научного учреждения "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений" федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Белгородский государственный национальный исследовательский университет", Министерства образования и науки Российской Федерации, федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "МИРЭА - Российский технологический университет" на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук

по специальности 14.04.02. – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность исследования

Важным критерием безопасности активных фармацевтических субстанций, используемых в производстве стерильных лекарственных препаратов, является показатель «Бактериальные эндотоксины», направленный на определение источников пирогенных реакций. Если ранее такие примеси определяли по показателю "Пирогенность", выполняемом на кроликах, то в последние годы основным методом, как более универсальным, стал Лал-тест, реагент которого специфически реагирует с эндотоксином. Однако, до сих пор этот метод недостаточно проработан в методическом плане. Даже в последнем издании Государственной Фармакопеи ГФ XIII РФ требования общей фармакопейной статьи (ОФС 1.2.4.0006.15) содержат лишь общие методические сведения для выполнения анализа лекарственных средств по показателю «Бактериальные эндотоксины». В ОФС отсутствуют подробные рекомендации, включающие условия пробоподготовки образцов, которые значимы при выполнении ЛАЛ-теста, в особенности для фармацевтических субстанций. Это значительно усложняет процедуру определения бактериальных эндотоксинов, особенно в тех случаях, когда субстанции являются водонерастворимыми или обладают мешающими факторами при выполнении ферментативной реакции бактериальных эндотоксинов с ЛАЛ-реактивом.

Диссертационная работа, посвященная разработке методических подходов для определения бактериальных эндотоксинов, направленных на обоснование и оптимизацию условий пробоподготовки и проведения анализа фармацевтических субстанций с учетом их физико-химических свойств (растворимость, вязкость, кислотность, щелочность, химическое строение и др.) позволяет исключить ложноотрицательные результаты ЛАЛ-теста. Таким образом, актуальность диссертационной работы Шаповаловой О.В., посвященной исследованиям, направленным не только на разработку универсальной схемы определения бактериальных эндотоксинов в фармацевтических субстанциях, но и впервые проводимую валидацию, неоспорима.

Научная новизна исследований

Научная новизна диссертационной работы Шаповаловой Ольги Владимировны обусловлена тем, что впервые определены теоретические, экспериментальные и методические особенности всесторонней оценки качества субстанций по показателю «Бактериальные эндотоксины», которые были положены в основу разработки универсальной схемы проведения ЛАЛ-теста. Установленная схема предусматривает пробоподготовку субстанций с разной растворимостью, определяет основные критерии выбора растворителя для водонерастворимых фармацевтических субстанций, обосновывающие отсутствие влияния растворителя на биологическую активность БЭ и реакцию ЛАЛ-реактива с контрольным стандартным образцом эндотоксина.

Таким образом, исследования, проведенные диссидентом, имеют новизну и важное значение для фармацевтической науки. При этом впервые проведенная валидация применимости разработанного алгоритма определения бактериальных эндотоксинов в субстанциях позволяет рекомендовать его применение не только в описанных частных случаях.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пункту 2 "формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств", а именно пункту 3 – «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления».

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

Диссертационная работа Шаповаловой Ольги Владимировны выполнена на современном научном уровне с использование современных методов анализа

(биологических, статистических).

Обоснованность и достоверность полученных результатов, подтверждается комплексным характером исследования, большим объемом информационно-аналитических и экспериментальных исследований по разработке и апробации методики, удовлетворительной сходимостью результатов теоретических расчетов и экспериментальных исследований, статистически значимым объемом экспериментов.

Структура работы соответствует поставленным задачам и разработанному алгоритму исследования.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Значимость диссертации состоит в том, что в результате проведенных исследований разработана универсальная схема проведения ЛАЛ-теста, которая актуальна в особенности на стадии разработки и внедрения раздела «Бактериальные эндотоксины» для нормативной документации на фармацевтические субстанции. Доказанная возможность использования этилового спирта 96% в качестве растворителя водонерастворимых при определении бактериальных эндотоксинов способствует к широкому применению его в ЛАЛ-тесте.

В результате проведенных исследований разработаны методики определения бактериальных эндотоксинов в 54 наименованиях субстанций с учётом их физико-химических свойств и мешающих факторов.

Особая ценность диссертационной работы заключается также в том, что впервые обоснованные валидационные параметры и критерии их оценки могут быть использованы для описания проводимой разработки методики определения бактериальных эндотоксинов в фармацевтических субстанциях и оформления валидационных материалов, предоставляемых на экспертизу в Испытательные центры.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, из них 4 - в издани-

ях, включенных в «Перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК РФ».

Результаты и основные положения диссертационного исследования доложены и обсуждены на XIII, XIV, и XV Российских национальных конгрессах «Человек и лекарство», (Москва, 2006, 2007, 2008 г.), заседании секции медицинской и фармацевтической микробиологии Московского отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Москва, 2017 г.).

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

На основании полученных данных доказана возможность использования этилового спирта 96% в качестве растворителя водонерастворимых субстанций при определении бактериальных эндотоксинов. Усовершенствована методика определения бактериальных эндотоксинов в фармацевтической субстанции терафтала, способствующая устраниению мешающего фактора и определению реального содержания эндотоксинов в меньшем разведении основного раствора субстанции (акт внедрения от 23.11.2005 г.).

Следует отметить практическую ценность проведенных автором исследований при подготовке ОФС 1.2.4.0006.15 «Бактериальные эндотоксины» Государственной Фармакопеи ГФ XIII издания, проекта ОФС «Бактериальные эндотоксины» Государственной Фармакопеи РФ XIV издания, ФС.2.10032.15 «Рифампицин» (акт внедрения 20.06.2017 г.), а также в разработке методических рекомендаций «Правила составления, изложения и оформления нормативной документации на фармацевтические субстанции» (2009 г.).

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа выполнена в соответствии с требованиями ВАК РФ и состоит из введения, обзора литературы, результатов исследований, обсуждения, выводов, списка литературы на 120 страницах машинописного текста, состоящего из 112 источников, из них 53 работы иностранных авторов, содержит

29 таблиц и 21 рисунок.

Во введении автор обосновал актуальность темы, четко сформулировал цель и задачи исследований.

Обзор литературы (глава 1) изложен со знанием изучаемой проблемы на современном уровне и соответствует теме исследований. Ссылки на источники достоверны, научная информация по проблеме представлена сведениями последних лет, как в нашей стране, так и за рубежом. Автором проанализированы методы определения пирогенных примесей в лекарственных средствах парентерального применения. Часть литературного обзора посвящена особенностям определения бактериальных эндотоксинов, как основных источников пирогенов в фармацевтических субстанциях.

На основании проведенного анализа литературы Шаповалова О.В. объективно и целенаправленно спланировала проведение собственных исследований.

Во второй главе автором приведены материалы и методы, использованные при работе над диссертацией. В ходе работы проведены исследования 168 образцов 54 наименований фармацевтических субстанций.

В третьей главе автором представлены исследования влияния органических растворителей на активность бактериальных эндотоксинов и на наличие мешающих факторов. В качестве объектов исследования выбраны этиловый спирт 96%, диметилформамид, диметилсульфоксид, использование которых наиболее часто упоминалось в анализируемой нормативной документации. В ходе проведенного анализа экспериментально подтверждена возможность использования этилового спирта 96% для определения бактериальных эндотоксинов в водонерастворимых субстанциях. Определена кратность его разведения в воде, при которой отсутствуют мешающие факторы, влияющие на результаты опыта. Установлено, что использование органических растворителей, таких как диметилформамид и диметилсульфоксид недопустимо, так как они приводят к разрушению эндотоксина или уменьшению его биологической активности.

В четвертой главе представлен системный подход к определению бактериальных эндотоксинов в фармацевтических субстанциях с учётом их физико-

химических свойств. Согласно разработанной универсальной схеме первоначально необходимо правильно рассчитать норму предельного содержания бактериальных эндотоксинов, затем изучить физико-химические свойства субстанций для процедуры пробоподготовки и последующего анализа их растворов. В результате разработки методик определения бактериальных эндотоксинов для каждого наименования субстанций экспериментально обосновано применение рабочего разведения с устранением мешающих факторов, которые влияют на достоверную оценку качества.

В пятой главе представлены результаты проведенного валидационного исследования с обработкой экспериментальных данных и оценкой валидационных параметров, которые позволили охарактеризовать пригодность разработанных методик определения БЭ в АФС 5 наименований (декстроза моногидрат, кальция хлорид гексагидрат, магния сульфат, натрия хлорид, пирацетам). Для этого выполнены испытания образцов с помощью гель-тромб теста и параллельно фотометрическими кинетическими методами (турбидимитрическим и хромогенным). Результаты выполненных в процессе диссертационной работы валидационных исследований по параметрам: специфичность, предел обнаружения, линейность, правильность, прецизионность показали отсутствие статистически значимых различий между результатами, полученными разными методами. Даные статистические показатели указывают на возможность использования любого из рассматриваемых методов, исключая при этом, вероятность получения недостоверных результатов анализа качества фармацевтических субстанций

Личный вклад автора

Автору принадлежит основная роль в определении цели и постановке задач, выборе объектов исследования, теоретических изысканий, планировании и проведении экспериментальных исследований, обобщении полученных результатов и отражении их в докладах на конференциях и публикаций, проектов ОФС.

Замечания и вопросы по содержанию и оформлению работы

После детального рассмотрения и положительной оценки работы, считаем целесообразным конкретизировать некоторые моменты, а именно:

1. На основании каких предпосылок выбраны объекты исследования, и что послужило определяющим фактором для выбранных групп препаратов?
2. Чем обусловлено использование только указанных в работе органических растворителей? Есть ли у автора предложения по возможному расширению списка органических растворителей для применения в ЛАЛ-тесте?
3. Наблюдалась ли корреляция степени влияния мешающего фактора от химической структуры исследованных АФС?

Отмеченные вопросы не носят принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку рассматриваемой работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Шаповаловой Ольги Владимировны на тему «Разработка методических подходов для определения содержания бактериальных эндотоксинов в фармацевтических субстанциях» является законченной научно-квалифицированной работой, в которой выполнен значительный объем экспериментальных исследований на актуальную тему и решены задачи, имеющие существенное методологическое значение для фармацевтической практики в сфере контроля качества по биологическому показателю «Бактериальные эндотоксины». По актуальности выбранной темы, научной новизне, объему проведенных исследований, практической значимости, обоснованности и достоверности выводов диссертационная работа в полной мере соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с учетом изменений, внесенных в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор - Шаповалова Ольга Владимировна, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв на диссертационную работу Шаповаловой О.В. заслушан и утвержден на заседании отдела химии и технологии синтетических лекарственных средств. Протокол № 2 от 06.08.2018 г.

Заведующая отделом химии и технологии
синтетических лекарственных средств
АО «Всесоюзный научный центр по
безопасности биологически активных веществ»,
доктор химических наук, профессор

06.08.2018г

Скачилова Софья Яковлевна

Заведующая сектором микробиологического
контроля АО «Всесоюзны научный центр по
безопасности биологически активных веществ»,
кандидат биологических наук

06.08.2018г

Тропина Валентина Ивановна

Подписи Скачиловой Софии Яковлевны и Тропиной Валентины Ивановны
заверяю

ЗАМЕСТИТЕЛЬ
ГЕНЕРАЛЬНОГО ДИРЕКТОРА
ПО НАУЧНОЙ РАБОТЕ
АО «ВНЦ БАВ»
ПРОСКУРИНА О.В.

АО «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ» 142450, Россия, г. Старая Купавна, Ногинского района, Московской области, ул Кирова, 23. Тел.:+7(495) 702-96-37; Факс/тел.: +7(495) 702-95-86
E-mail: yncbav@bk.ru, www.yncbav.ru