

**УТВЕРЖДАЮ**

Генеральный директор  
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава  
России

доктор медицинских наук,  
старший научный сотрудник

Ю.В. Олефир.  
2020 г.



## ОТЗЫВ

ведущей организации о научно-практической ценности диссертации  
Еремина Дмитрия Викторовича на тему «Физико-химические свойства и  
стандартизация сополимеров винилпиридина в качестве иммуноадъювантов  
ветеринарных вакцин» на соискание степени кандидата фармацевтических наук  
по специальности 14.01.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия  
(фармацевтические науки)

### **Актуальность проведенных исследований**

Актуальность темы кандидатской диссертации Еремина Д.В. обусловлена необходимостью поиска и разработки технологии производства новых отечественных лекарственных соединений с иммуноадъювантной активностью.

Эпидемиологическая ситуация по вирусным и бактериологическим инфекциям животных в Российской Федерации по данным Россельхознадзора РФ неуклонно ухудшается. По прогнозам заболеваемость в ближайшее время будет возрастать, что связано с неэффективной вакцинацией, отсутствием плановой вакцинации и контактами с дикими животными или птицами. На этом фоне используемая в настоящий момент профилактическая вакцинация не всегда позволяет решать поставленные задачи. В свете данной проблемы особое внимание уделяется повышению иммуностимулирующих свойств вакцин посредством их комбинации с иммуноадъювантами. Однако,

существующие группы адъювантов обладают многочисленными побочными эффектами, часто лимитирующими их применение. Одной из перспективных групп современных иммуноадъювантов являются полимерные синтетические соединения, среди которых стоит отметить сополимеры N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина, для которых установлена низкая токсичность наряду с высокой биологической активностью. Однако, отсутствие данных по их поведению в водных растворах, являющихся наиболее часто используемыми средами для инъекционных лекарственных препаратов, в зависимости от их мономерного состава обуславливает вопросы разработки иммуноадъювантов.

Не менее актуальным является направление усовершенствования методики синтеза сополимера за счет разработки более совершенных аналитических методов анализа мономерного состава в реакционной массе и создания эмпирической базы данных изменения расхода мономеров в процессе сополимеризации при различных условиях синтеза. Необходима также реализация принципа компенсации более реакционно способного мономера с использованием современной материально-технической базы и технологических решений, что позволит предложить современный подход к проведению и контролю процесса сополимеризации и состава сополимеров, отвечающих требованиям, предъявляемым к иммуноадъювантам ветеринарных вакцин.

Изучение биологической активности иммуноадъювантов в составе ветеринарных вакцин в отношении инфекционных заболеваний на модельных тест-системах является первым этапом доклинической оценки эффективности новых лекарственных препаратов.

Таким образом, цель и задачи данного диссертационного исследования являются, безусловно, актуальными и четко сформулированными в рецензируемой работе.

Исследования в рамках настоящей работе, связанные с контролем состава реакционной массы и получаемых сополимеров, проводились на

современном оборудовании с применением реагентов высокого качества. Особым показателем достоверности представленных результатов служат полученные автором патенты на созданные установки получения и очистки сополимеров.

Эксперименты с использованием моделей *in vivo* инфекционных заболеваний (сибирской язвы животных, вирусной геморрагической болезни кроликов, вируса гриппа А птиц) спланированы с включением всех необходимых контролей:

- групп животных без заражения и без вакцинации,
- групп животных с вакцинацией без иммуноадьювантов,
- групп зараженных животных с вакцинацией и иммуноадьювантом.

Результаты, выводы и предложенные рекомендации базируются на данных, полученных на достаточном количестве экспериментального материала с использованием современных подходов обработки данных, они обоснованы, корректно сформулированы и соответствуют поставленным цели и задачам.

В опубликованные автором научные работы, отражающие основные результаты исследований, входят 6 статей в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, а также 3 патента и 5 тезисов докладов в материалах российских и международных конференций.

### **Новизна и практическая значимость исследований**

Новизна исследования подтверждается тем, что диссертантом впервые определены физико-химические свойства сополимеров N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина в широком интервале соотношений мономеров. В процессе работы обоснованы оптимальные составы сополимеров, пригодные для жидких лекарственных форм. Впервые установлена зависимость растворимости сополимеров в воде от pH, температуры, наличия и концентрации солей и поверхностно-активных веществ в растворе.

Автором впервые разработана технологию выделения сополимеров N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина из реакционной массы с использованием метода ультрафильтрации, а предложенная диссертантом установка ультрафильтрационной очистки продуктов сополимеризации N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина обеспечивает необходимую степень очистки сополимеров, существенно повышая биологическую безопасность производства.

Полученные в ходе исследования физико-химические характеристики и иммунологические параметры сополимеров N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина дополняют представления о биологических свойствах синтетических адъювантных соединений. В частности, сополимер, содержащий 34 моль% 2-метил-5-метилпиридина был испытан в композиции с вакцинами и показал высокую эффективность в качестве иммуноадъюванта в составе ветеринарных вакцин против сибирской язвы животных, вируса геморрагической болезни кролика и вируса гриппа птиц А, являющихся экономически значимыми заболеваниями.

Внедренные усовершенствования в методику синтеза сополимеров N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина позволяют в дальнейшем обеспечить наработку данного продукта. Кроме того, предложенный в работе способ анализа мономерного состава реакционной массы методом ВЭЖХ, а также алгоритм расчета, позволяющий учитывать изменения скорости процесса сополимеризации, позволил сократить отклонения мономерного состава от заданного до 0,7 моль % 2-метил-5-винилпиридина. В рассматриваемой диссертации впервые на экспериментальных моделях был исследован сополимер с содержанием 35 моль% 2-метил-5-винилпиридина.

### **Оценка выполненной соискателем работы**

Диссертационная работа Еремина Д.В. оформлена в соответствии с общими требованиями действующего «Положения о порядке присуждения

ученых степеней» Минобрнауки РФ, предъявляемыми к кандидатским диссертациям.

Диссертация изложена на 129 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, выводов, списка использованной литературы (198 литературных источника, из которых 80 отечественных и 118 зарубежных публикаций) и двух приложений. Работа проиллюстрирована 27 таблицами и 25 рисунками.

**Обзор литературы** написан достаточно подробно и включает подразделы, посвященные классификации и описанию механизма действия иммуноадьювантов, истории исследования сополимеров N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина и основным подходам к синтезу сополимеров N-винилпирролидона. В целом, данная глава представляется полной как по объему, так и по глубине затронутых вопросов с соблюдением логики изложения материала.

**В главе 2** описаны объекты исследования, использованные реагенты и оборудование, а также приведены методики изучения биологической активности сополимеров. Из используемых методик, таких как титрование, спектроскопии и спектрофотометрии, метод потенциометрического неводного титрования был определен как наиболее точный и воспроизводимый.

Показаны различные применяемые методики, например, определение характеристической вязкости сополимеров, выявление посторонних примесей, остаточных растворителей и мономеров, а также биологические методы оценки иммуноадьювантной активности сополимеров *in vivo* на морских свинках, кроликах и цыплятах.

**В главе 3** изложены пути усовершенствования процесса сополимеризации мономеров и методы контроля радикальной

сополимеризации, в частности, описан новый метод контроля реакционной массы, позволивший сократить время анализа до 4 минут вместо 8 минут, тем самым сократить колебания между отборами проб с 10 до 5 %.

Автор разработал и обосновал алгоритм расчета необходимого объема компенсирующей мономерной смеси для учета изменения скорости расхода мономеров в процессе синтеза, который позволяет добиться минимального отклонения мономерного состава (не более, чем 0,7 % 2-метил-5-винилпиридина).

В данной главе и в Приложениях 1 и 2 дано описание разработанной диссертантом автоматизированной установки синтеза и очистки сополимеров.

Интересны результаты исследований растворимости сополимеров, в ходе которых было установлено, что к использованию в составе ветеринарных вакцин пригодны сополимеры, содержащие от 25 до 35 моль % 2-метил-5-винилпиридина. Показано, что в качестве веществ, увеличивающих растворимость сополимеров, можно использовать не только хлориды и йодиды, а также додоцилсульфат натрия в допустимых для вакцин концентрациях.

Полученные в экспериментах *in vivo* результаты исследования иммуноадъювантных свойств показали ярко выраженное иммуностимулирующее действие сополимеров. Так, использование сополимеров совместно с вакциной против сибирской язвы повысило ее эффективность в 2 – 3 раза, а комбинация сополимера с инактивированной вакциной против вируса геморрагической болезни кроликов повысило титр специфичных антител в 4 раза по сравнению с животными, вакцинированными только вакциной. В группах цыплят, которым вводили сополимер и антиген вируса птичьего гриппа, титр антигемагглютининов был в 2,3 – 11,0 раз выше, чем в группах животных, иммунизированных только вакциной.

Все полученные результаты суммированы в 4 выводах, логично связанных с поставленными задачами.

Автореферат отражает основные результаты диссертационного исследования.

Несмотря на высокую положительную оценку диссертационной работы Еремина Д.В., возникли некоторые вопросы и замечания, требующие уточнения:

1. Каким образом проводили выбор лабораторных животных для выполнения биологических испытаний в соответствии с поставленными задачами?

2. Какую питательную среду использовали для посева при определении количества жизнеспособных спор сибириязвенной вакцины при изучении состояния контаминированных внутренних органов падших лабораторных животных? Как подтверждали качество применяемой питательной среды?

3. По каким параметрам (характеристикам) выполнялась валидация методики контроля состава реакционной смеси? На какую нормативную базу опирались при выборе рассматриваемых параметров?

4. Целесообразно было бы методики, приведенные в параграфах 2.2.1-2.2.4; 2.3, разработанные самим автором, включить в экспериментальную часть вместе с результатами и обсуждением. Также следовало бы поступить и с материалами, вынесенными в приложение.

Данные замечания не снижают бесспорной ценности диссертации, являющейся завершенной научно-исследовательской работой на актуальную тему. Научные результаты, полученные диссидентом, имеют существенное значение для производства новых иммуноадъювантов для ветеринарных вакцин на основе водных растворов сополимеров N-винилпирролидона и 2-метил-5-венилпиридина.

Выводы и рекомендации достаточно обоснованы.

## Заключение

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Еремина Дмитрия Викторовича соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а Еремин Дмитрий Викторович заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Диссертационная работа и отзыв были обсуждены на заседании Ученого совета ФГБУ НЦ ЭСМП МЗ РФ.

Присутствовало на заседании 22 человека.

Результаты голосования «за» 22 человека,

«против» Нет, «воздержалось» нет, протокол №01 от «17» марта 2020 г.

Доктор фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия, начальник лаборатории микробиологии испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Гунар Ольга Викторовна

Подпись Гунар Ольги Викторовны заверяю

«18 » марта 2020 г

Ученый секретарь  
Федерального государственного бюджетного учреждения  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Кандидат медицинских наук



Климов В.И.