



Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

ОГРН 1037722027727, ИНН 7722292838, КПП 774850001, ОКПО 14237183, ОКВЭД 24.41

Место нахождения: ул. 1-я Дубровская, 15, г. Москва, 115088. Почтовый адрес: 2-й Волконский пер., 10, г. Москва, 127473
Тел.: 8 (495) 790 77 73, факс: 8 (495) 783 88 04

№ _____
на № _____ от _____ 201__ г.

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук, заместителя начальника управления науки,
инновационного развития и внедрения новых препаратов по препаратам крови ФГУП
«НПО «Микроген» Минздрава РФ

ЗУБКОВОЙ НАТАЛИИ ВАСИЛЬЕВНЫ

на диссертационную работу Мальгиной Дарьи Юрьевны на тему:

**«Разработка технологии гемодеривата из отхода производства интерферона и
перспективы его использования»,**

представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по
специальности 14.04.01- технология получения лекарств

Актуальность темы исследования

Работа посвящена проблеме утилизации отходов производства, что само по себе является очень актуальным для биофармацевтических производств. В качестве объекта исследования выбрана эритроцитарная масса – отход производства человеческого лейкоцитарного интерферона. В качестве метода переработки предложен ферментативный гидролиз, который и ранее применялся в биофармацевтике при производстве таких препаратов, как «Аминокровин», «Инфузамин», а также «Аминопептид», «Гидролизин», получаемые из крови крупного рогатого скота.

Однако в литературе недостаточно полно представлена номенклатура содержащих гидролизаты белков питательных сред для диагностики, культивирования, хранения микроорганизмов, нет достаточных сведений об их физико-химических и биологических свойствах. Автору удалось подтвердить предположения о перспективности получения и использования гидролизатов белков, а так же доказать уникальные свойства гидролизата эритроплазмы крови человека.

В связи с этим, можно сделать заключение об актуальности темы диссертационной работы Мальгиной Д.Ю., целью которой было создание технологии депротенизированной гемодеривата эритроплазмы крови человека с оценкой возможности его применения в производстве медицинских иммунобиологических препаратов.

Цель исследования сформулирована корректно. Указан источник получения сырья и способы оценки его безопасности в отношении гемотрансмиссивных инфекций. Практический выход диссертационной работы выражен в разработке состава питательной среды с гемодериватом для удешевления процесса контроля качества человеческого лейкоцитарного интерферона.

Вводная часть и обзор литературы не достаточно полно отражают необходимость промышленного производства природного интерферона.

Следовательно, необходимо было подчеркнуть преимущества использования в терапевтических целях именно природного интерферона, а не рекомбинантного или его индукторов, т.е. указать на уникальные свойства и необходимость стабильного периодического производства.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, их достоверность и новизна

Для достижения поставленной цели Дарьей Юрьевной выбран оптимальный способ гидролиза эритроцитарной массы, включающий подготовительный этап – гемолиз эритроцитов и вирусинактивацию, и биотехнологическую стадию – ферментативный гидролиз пепсином с последующей его инактивацией. Для осветления, очистки и выделения гемодеривата разработан авторский метод, позволяющий получать на выходе субстанцию низкомолекулярных пептидов. Необходимо подчеркнуть, что автор в работе активно использовал существующий опыт по обеспечению вирусной безопасности препаратов, полученных из эритроцитарной массы. Заметно, что Мальгина Дарья знает особенности технологии природного интерферона альфа и стадии, обуславливающие безопасность конечного продукта.

Оригинально, что продукт, полученный в результате переработки побочного продукта производства интерферона, предложен для использования в той же технологии, только на стадии контроля противовирусной активности интерферона альфа.

Обоснованность и достоверность положений и выводов, сформулированных в диссертации, вытекают из цели исследования. Применение комплекса взаимодополняющих друг друга методов позволило автору представить ряд выводов и рекомендаций, имеющих важное практическое значение. Обработан существенный объем экспериментальных данных. Диссертант использовал современные химические и физико-химические методы анализа (качественные реакции, ВЭЖХ, аминокислотный анализ), биологические методы (антибактериальной, пролиферативной активности, кожно-раздражающего действия, способности стимулировать рост ворса экспериментальных животных). Выводы по результатам исследования соответствуют поставленным задачам и логично вытекают из представленных экспериментальных данных.

Практическая значимость

В результате исследований была разработана технология получения гемодеривата – субстанции низкомолекулярных пептидов из эритроцитарной массы крови человека. На технологию получено разрешение на выдачу патента.

Разработан состав питательной среды для культивирования клеточной линии SPEV, содержащей гемодериват. Проведены испытания, доказывающие возможность использования клеточной линии SPEV, выращенной на среде с гемодериватом, при оценке противовирусной активности интерферона. В приложениях к диссертационной работе имеются необходимые протоколы и акт испытания питательной среды, содержащей гемодериват.

Основные положения диссертационной работы Дарьи Юрьевны доложены и обобщены на международных, региональных и Всероссийских конференциях, конгрессах, а так же на инвестиционном форуме Интерра-2012.

По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, включая 2 статьи в

журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов научных исследований по кандидатским диссертациям.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.01 – технология получения лекарств. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пункту 7 паспорта 14.04.01 – технология получения лекарств.

Структура диссертационной работы

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, двух глав экспериментальных исследований, заключения, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 132 источника, из них 97 отечественных и 35 иностранных авторов. Работа изложена 151 странице машинописного текста, содержит 25 таблиц, 22 рисунка, 3 приложения.

Во введении обоснована актуальность настоящего исследования, сформулирована цель и задачи, отмечена научная новизна и практическая значимость результатов. Правда, недостаточно четко разделены научная значимость и практическая новизна, имеются повторы.

В первой главе приведен обзор литературы, касающийся вопроса утилизации белковых отходов промышленных предприятий и приведены биотехнологические аспекты этого процесса. Обозначены перспективы использования препаратов на основе производных крови человека, а так же аспекты использования эритромаcсы – отхода производства человеческого лейкоцитарного интерферона.

Во второй главе описаны объекты, материалы и методы исследования, применяемые для получения и оценки качества гемодеривата из эритромаcсы крови человека.

В третьей главе представлена технология получения гемодеривата и показаны результаты оценки его физико-химических свойств.

Четвертая глава посвящена исследованию биологической активности гемодеривата. Показано наличие антибактериальных свойств, пролиферативной активности, а так же свойства стимуляции роста ворса на экспериментальной модели морской свинке. Представлены результаты испытания питательной среды, содержащей гемодериват. Показано, что экспериментальная среда может применяться в технологии человеческого лейкоцитарного интерферона на стадии контроля его противовирусной активности и может быть рекомендована для культивирования перевиваемой клеточной линии SPEV.

Замечания по оформлению и содержанию работы

Работа интересная, содержательная. Результаты исследований обработаны с использованием статистических методов анализа, достоверны и убедительны. Диссертация написано грамотно, соблюдены правила орфографии и пунктуации.

При рассмотрении диссертационной работы возникли замечания и вопросы:

1. Проводили ли Вы исследования вирусной безопасности эритромаcсы в отношении клеточно-ассоциированных вирусов, а именно цитомегаловируса, герпес-вирусов, вируса Эпштейн-Барра?
2. После гидролиза эритромаcсы трипсином в течение 48 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и значении рН 7,8 Вы отмечали трудности на стадии очистки. Вы не

указали условия стерильности процесса. Связаны ли эти трудности с ростом микрофлоры в довольно благоприятных условиях? Возможно ли вообще создать полностью стерильные условия гидролиза эритромаcсы?

3. Сырье для производства интерферона получают из цельной донорской крови путем разделения на фракцию плазмы и форменных элементов с последующим осаждением эритромаcсы. Только в этом случае Вы будете иметь достаточное количество сырья. Возможно, экономически выгоднее будет внедрить технологию лейкоцитозереза – забора лейкоцитов донора с возвратом ему эритромаcсы. Тогда отпадет необходимость утилизации эритромаcсы, сократятся сроки получения интерферона на производстве, что приведет к неминуемой экономической эффективности процесса, прогнозируемо большей, чем рассчитано Вами. Соответственно, практический выход (питательная среда с гемодериватом), показанный в диссертации потеряет актуальность.

Заключение

Диссертационная работа Дарьи Юрьевны Мальгиной на тему «Разработка технологии гемодеривата из отхода производства интерферона и перспективы его использования» является завершенным исследованием, имеющим практический выход при решении проблемы использования отходов биотехнологического предприятия.

Диссертационная работа по своей актуальности, научной новизне, практической значимости, достоверности полученных результатов, уровню апробации и опубликованию основных положений в печати соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., а Дарья Юрьевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств.

Официальный оппонент:

доктор фармацевтических наук,
заместитель начальника управления науки,
инновационного развития и внедрения новых препаратов
ФГУП «НПО «Микроген»
Минздрава России


Н.В.Зубкова

Дата: 01.04.2014г.

Согласовано:

Первый заместитель
генерального директора




В.Ф.Руденко