

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой  
фармацевтической технологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава РФ

### **ПЕРВУШКИНА СЕРГЕЯ ВАСИЛЬЕВИЧА**

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 выполненной работы**

Медицинские препараты, такие как иммуноглобулины, альбумин, интерфероны, являются наиболее эффективными средствами коррекции иммунологических состояний человека. Потребность в данных лекарственных средствах существует независимо от эпохи, но их производство ограничено объемом исходного ресурса – донорской крови. Совершенствование существующих технологий препаратов крови выражается не только в расширении номенклатуры, но и в грамотной утилизации отходов производства, которые наравне с исходным сырьем представляют не только биологическую, но и экономическую ценность. В работе сделан акцент на технологию человеческого лейкоцитарного интерферона – противовирусного средства широкого спектра действия, производство которого сопряжено с получением побочного не утилизируемого продукта – эритромаcсы донорской крови. Исследован биотехнологический потенциал такого отхода и показан способ экономически целесообразного его использования.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава РФ (номер государственной регистрации 01.9.50007426).

#### **Соответствие диссертации заявленной 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.

## Научная новизна исследований и полученных результатов

Автор провел анализ рынка препаратов на основе гидролизатов белков различного происхождения и, пользуясь существующим опытом, предложил способ переработки эритромаcсы крови человека. Исходное сырье для производства интерферона – лейкоэритромаcса – являлось безопасным в отношении наличия возбудителей гемотрансмиссивных инфекций по результатам вирусологического контроля, соответственно дополнительного исследования эритромаcсы после отделения лейкоцитов не требовалось. С целью повышения вирусной безопасности эритромаcсы автор разработал способ предгидролизной высокотемпературной обработки сырья с последующей оценкой вирусной нагрузки методом полимеразной цепной реакции. Автором создана оригинальная технология ферментативного гидролиза эритромаcсы, позволяющая получать продукт, содержащий в составе низкомолекулярные пептиды с молекулярной массой до 6 кДа. Продукт гидролиза эритромаcсы автор назвал гемодериватом. Обоснованы критерии выбора фермента, его концентрации, продолжительности гидролиза. Особое внимание автор уделил разработке процедуры осветления с использованием разбавленной перекиси водорода и очистки гемодеривата путем центрифугирования и фильтрации.

Автор глубоко проработал литературу, касающуюся свойств белковых гидролизатов, в частности, содержащих наряду с аминокислотами пептидные соединения. Проведены исследования, в результате которых было впервые показано, что гемодериват из эритромаcсы крови человека обладал антибактериальной активностью по отношению к представителям условно-патогенной микрофлоры, был нетоксичен по отношению к перевиваемой клеточной линии, а при выявлении отсутствия кожно-раздражающего действия при накожных аппликациях на экспериментальной модели морской свинке было установлено свойство стимуляции скорости роста ворса. Результаты исследований подтверждены использованием статистических методов обработки экспериментальных данных и не подлежат сомнению.

Одним из реализованных автором практических путей использования продукта переработки эритромаcсы стало создание нового состава питательной среды, содержащей гемодериват, для культивирования перевиваемой клеточной линии SPEV, используемой при контроле противовирусной активности человеческого лейкоцитарного интерферона. Эффективность применения среды доказана на базе Пермского филиала НПО «Микроген». Эффект питательной среды подтвержден актами испытания, приведенными в приложении. Автор оценил и экономическую эффективность использования новой среды, которая составила по его подсчетам 9%. С точки зрения данного аспекта в работе изложена позиция,

доказывающая возможность создания безотходной и экономически выгодной технологии человеческого лейкоцитарного интерферона. В виду того, что гемодериват обладал не только пролиферативными свойствами по отношению к клеткам SPEV, возможно дальнейшее изучение его биологической активности и создание препаратов на его основе. Таким образом, по научной новизне работа является актуальной и результативной, а так же представляет собой фундамент для дальнейших испытаний.

**Значимость для науки и производства результатов, полученных автором исследования.**

В диссертационной работе автор предложил способ переработки побочного продукта производства человеческого лейкоцитарного интерферона – эритроцитной массы крови человека. В работе автором показан оптимальный вариант проведения гидролиза эритроцитной массы. Описаны некоторые методы обработки эритроцитной массы перед гидролизом, обоснованные с точки зрения обеспечения дополнительной вирусной безопасности сырья, а так же для интенсификации последующего процесса ферментативного гидролиза. Автором разработана и обоснована технология гидролиза эритроцитной массы с получением гемодеривата, а так же получена питательная среда, его содержащая. Автор предложил применять такую среду для культивирования перевиваемой клеточной линии. По результатам исследования клеток, выращенных на питательной среде с гемодериватом, была доказана возможность их использования при контроле противовирусной активности полуфабриката интерферона, т.е. на стадии контроля качества. Необходимость утилизации эритроцитной массы неоспоримо доказана в литературном обзоре, а возможность использования гемодеривата в технологии интерферона обоснована экономической эффективностью, а так же заверена документально.

С точки зрения теоретической значимости выполненной работы следует отметить проведенные автором исследования биологической активности гемодеривата. В результате выявлены свойства субстанции, выделенной из эритроцитной массы – антибактериальные и стимулирующие рост ворса. Эти факты значительно расширяют знания об уникальности состава крови человека и позволяют ставить новые задачи и находить пути их решения.

**Степень обоснованности и достоверности научных результатов, положений и выводов диссертации.**

Степень обоснованности и достоверности научных результатов, выводов и заключений соискателя подтверждены использованием современных методов исследований с применением компьютерных технологий, математического планирования экспериментов, физико-химического анализа,

а так же протоколами исследований и актом внедрения на существующем производстве с расчетом экономической выгоды на конкретном примере.

Структура работы и последовательность проведения экспериментов имеет логичный характер, каждый опыт обоснован с точки зрения существующий знаний в области изучения проблемы гидролиза белков, для каждой поставленной задачи найдено эффективное решение. Диссертационная работа сопровождается информативными таблицами, рисунками и ссылками на источники используемой литературы.

Результаты диссертационного исследования обсуждались на международных и региональных конференциях, инвестиционном форуме и отражены в 12 публикациях, 2 из которых в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Опубликована заявка на патент №2012123195 «Способ выделения низкомолекулярных пептидов», получено разрешение на его выдачу.

Достоверность полученных результатов, обработанных статистическим методом, а так же положений и выводов диссертационной работы не вызывают сомнения. Опубликованные в открытой печати результаты диссертационного исследования и автореферат отражают законченность и научную оригинальность работы, значение полученных данных для реального производства и характеризуют автора как самостоятельного, способного нестандартно мыслить специалиста в области фармацевтической науки и практики.

#### **Предложения, замечания и вопросы, возникшие при оценке работы и обсуждении отзыва**

Положительно оценивая результаты диссертационной работы в целом, при знакомстве с работой возникают некоторые вопросы и замечания:

1. Насколько обосновано использование пепсина и его концентрации 2% в технологии гемодеривата? Почему для гидролиза применяли только отдельные ферменты, а не их смесь?
2. Поясните, по какой причине использовали питательные среды, содержащие гемодериват в количестве от 15 до 50%, если сделан вывод, что наилучшими свойствами обладала среда с наименьшей его концентрацией? Почему не исследовали пролиферативные свойства сред, содержащих меньше 15% гемодеривата?
3. Поясните, какие еще исследования необходимы для внедрения разработки в технологию человеческого лейкоцитарного интерферона? Насколько целесообразно такое внедрение при экономической эффективности 9%?
4. По ходу текста диссертационной работы имеются отдельные неточности, опечатки и стилистические погрешности.



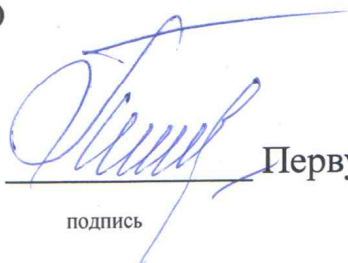
## **Заключение.**

Диссертационная работа Мальгиной Дарьи Юрьевны «Разработка технологии гемодеривата из отхода производства интерферона и перспективы его использования» является полноценной научной квалификационной работой, в которой представлены научно-методические подходы и результаты исследования для достижения поставленной цели по созданию унифицированной технологии гемодеривата из эритромаcсы крови человека с оценкой возможности его применения в производстве медицинских иммунобиологических препаратов.

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, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава РФ



Первушкин Сергей Васильевич

подпись

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России)

443099, Российская Федерация,

г. Самара, ул. Чапаевская, 89

Тел: 8 (846) 333-01-73, Факс: 8 (846) 333-29-76

E-mail: [info@samsmu.ru](mailto:info@samsmu.ru)

ОКПО 01963143, ОГРН 1026301426348

ИНН 6317002858/КПП 631701001

