

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук, профессора Белоусова Михаила Валерьевича на диссертационную работу Колгановой Марии Алексеевны на тему: «Разработка методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу в биологических объектах методом ИФА», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Колгановой Марии Алексеевны посвящена разработке и валидации двух биоаналитических методик, использованных для оценки фармакокинетики и иммуногенности отечественного препарата-биоаналога на основе молекулы трастузумаба в ходе проведения сравнительного клинического исследования I фазы с участием здоровых добровольцев. Препарат трастузумаб представляет собой гуманизированные моноклональные антитела, используемые в клинической практике в комбинации с химиотерапией для лечения метастатического и рецидивирующего HER2-положительного подтипа рака молочной железы (РМЖ), составляющего до 20 % от всех случаев РМЖ – самого распространенного типа онкозаболеваний у женщин во всем мире.

В процессе разработки и регистрации биологических лекарственных препаратов (ЛП), включая биоаналоговые ЛП, обязательным этапом является проведение клинических исследований с участием здоровых добровольцев и пациентов, что в свою очередь требует использования валидированных методик, позволяющих достоверно оценить сывороточные концентрации анализируемого вещества, а также, учитывая макромолекулярную природу препаратов, оценить их иммуногенность. При этом, в отличие от воспроизведенных препаратов на основе малых молекул, препараты-биоаналоги могут демонстрировать некоторые структурные различия с оригинальным ЛП, а следовательно, в таком случае требуется своего рода «индивидуальный» подход к разработке биоаналитических методик под каждый конкретный биоаналог.

Возрастающая с каждым годом потребность в отечественных препаратах, общий курс фармацевтической промышленности на импортозамещение, а также необходимость оказания качественной фармацевтической помощи населению, определяет актуальность проведенного исследования, поскольку полученные результаты вносят ощутимый вклад в повышение доступности таргетной терапии РМЖ трастузумабом для пациенток на территории Российской Федерации.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Колгановой М.А. представляет собой целостное, последовательно изложенное, структурированное исследование, основанное на достаточном объеме экспериментальных данных, полученных автором. Выбор основного метода исследования – метода иммуноферментного анализа (ИФА), подкреплен обзором литературы, посвященной проблематике исследования. Для полученных экспериментальных данных проведена статистическая обработка, результаты которой удовлетворяют требуемым критериям приемлемости, описанным в актуальной нормативной документации. Все сформулированные автором выводы и научные положения опираются на результаты экспериментальных данных, а также полностью согласуются с поставленными задачами и основной целью исследования.

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования

Достоверность результатов исследования обусловлена достаточным количеством экспериментальных данных, полученных методом ИФА с использованием сертифицированного оборудования, имеющего действительный статус поверки. Разработанные автором биоаналитические методики подвергнуты полной валидации в соответствии с требованиями основных регулирующих документов Евразийского экономического союза, при этом все изученные валидационные характеристики методик отвечают установленным требованиям. В ходе применения валидированных методик получены данные о фармакокинетике и иммуногенности сравниваемых препаратов трастузумаба, статистическая

обработка которых позволила сделать вывод о биоаналогичности исследуемого отечественного препарата «Трастузумаб» и препарата сравнения «Герцептин®».

Научная новизна исследования заключается в разработке и валидации биоаналитических методик, позволяющих оценить фармакокинетику и иммуногенность молекулы трастузумаба в составе отечественного препарата-биоаналога. Разработанная методика количественного определения трастузумаба характеризуется простотой выполнения и производительностью анализа, а методика полуколичественного определения анти-лекарственных антител к трастузумабу обладает высокой устойчивостью к интерферирующему ЛП, которая обеспечивается специальной пробоподготовкой биологических образцов с кислотной диссоциацией и аффинным отделением трастузумаба.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Основные научные положения, представленные в диссертационной работе, могут послужить теоретической основой при разработке биоаналитических методик для сопровождения сравнительных клинических исследований биоаналогичности. Так, например, методика полуколичественного определения анти-лекарственных антител к препарату и предложенный в работе подход к пробоподготовке биологических образцов применимы для других препаратов на основе технологии моноклональных антител. Кроме того, разработанные и валидированные в ходе выполнения исследования методики могут использоваться не только для проведения аналитической части клинических исследований препаратов трастузумаба, но и для проведения терапевтического лекарственного мониторинга эффективности (методика количественного определения трастузумаба) и безопасности (методика полуколичественного определения анти-лекарственных антител к трастузумабу) терапии трастузумабом.

Практическая значимость работы обусловлена внедрением полученных результатов исследования в работу профильных организаций, что подтверждается соответствующими актами: в научно-практическую деятельность общества с ограниченной ответственностью «ЦФА» и исследовательского центра общества с

ограниченной ответственностью «СК», а также внесением полученных результатов сравнительного клинического исследования I фазы в регистрационное досье препарата «Трастузумаб», производства общества с ограниченной ответственностью «Мабскейл».

Соответствие диссертации паспорту специальности

Научные положения диссертационной работы Колгановой М.А. соответствуют пункту 4 паспорта специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а также пункту 11 паспорта специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Полнота освещения результатов диссертации

Основные результаты, полученные в ходе выполнения исследования, были доложены Колгановой М.А. на 6 различных конференциях, в том числе с международным участием, а также были опубликованы в составе 8 печатных работ, из которых 4 – оригинальные статьи в журналах, индексируемых в международной базе данных Scopus, 3 иные публикации по результатам диссертационного исследования, а также 1 публикация в сборнике тезисов научной-практической конференции.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа Колгановой М.А. имеет классическую структуру, включающую в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, общие выводы, заключение, перспективы дальнейшей разработки темы и практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы, включающий 69 источников на иностранном языке и 32 на русском, а также 2 приложения. Текст работы изложен на 142 страницах и содержит 23 таблицы (2 из которых вынесены в приложение) и 10 рисунков.

В разделе **Введение** описана актуальность темы исследования и степень ее разработанности, поставлены основные задачи и общая цель проводимого

исследования, отмечена научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, приводятся основные положения, выносимые на защиту, а также сведения о публикациях по теме исследования и внедрении полученных результатов в практику.

Глава 1 представляет собой обзор литературы и содержит четыре основных раздела. В первом разделе подробно рассмотрены требования к разработке и регистрации препаратов-биоаналогов, принятые на территории России и Евразийского экономического союза. Второй и третий разделы первой главы посвящены всесторонней характеристике молекулы трастузумаба, а также обзору существующих препаратов-биоаналогов на его основе. В данных разделах приводится подробная информация о механизме действия и структуре трастузумаба, а также представлена сводная информация о фармакокинетике и иммуногенности препарата, учитывающая, в том числе, результаты целого ряда различных клинических исследований, проведенных как для оригинального ЛП, так и для его биоаналогов по всему миру. Четвертый раздел включает в себя обобщенные данные о методиках, используемых для определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к нему в биологических объектах, в том числе, в ходе проведения биоаналитических исследований, при этом, согласно результатам систематического анализа литературы, в качестве метода, наиболее подходящего для данных целей, автором отмечен метод ИФА.

Во **второй главе** представлены основные реактивы, материалы и оборудование, использованные при проведении исследования, а также приведено полное описание этапов выполнения анализа согласно разработанным методикам. Кроме того, отдельным аспектом Главы 2 является подробное описание дизайна и методологии проведения сравнительного клинического исследования биоаналогичности I фазы, биологические образцы из которого были проанализированы с использованием разработанных методик с целью оценки фармакокинетики и иммуногенности сравниваемых препаратов.

Глава 3 содержит описание всех основных результатов, полученных автором в ходе выполнения работы. В данной главе приведена информация о разработке и

валидации биоаналитических методик количественного определения трастузумаба и полуколичественного определения антител к трастузумабу в сыворотке крови человека методом ИФА. Разработанная методика количественного определения трастузумаба по результатам валидации характеризуется широким аналитическим диапазоном (3 – 300 мкг/мл трастузумаба в сыворотке крови), а также обладает приемлемой правильностью и прецизионностью получаемых значений, высокой селективностью, специфичностью и подтвержденной стабильностью трастузумаба при различных условиях хранения, включая продолжительную низкотемпературную заморозку. Разработанная методика полуколичественного определения анти-лекарственных антител к трастузумабу обладает высокой чувствительностью, селективностью, прецизионностью получаемых значений оптической плотности, а также характеризуется высокой устойчивостью к интерферирующему трастузумабу, при этом достигнутые значения устойчивости методики обеспечиваются именно с помощью специальной пробоподготовки биологических образцов с кислотной диссоциацией и аффинным отделением препарата, предложенной автором.

Логическим продолжением разработки и валидации биоаналитических методик является их апробация, что также описано в третьей главе. Методики используются для анализа исследуемых биологических образцов здоровых добровольцев в рамках сравнительного КИ биоаналогичности I фазы препаратов «Трастузумаб» (ООО «Мабскейл», Россия) и Герцептин® (Ф. Хоффман-Ля Рош Лтд., Швейцария). В тексте представлены усредненные фармакокинетические профили сравниваемых препаратов, рассчитаны основные и дополнительные фармакокинетические параметры, а также, на основании статистического сравнения рассчитанных параметров и их соотношений, сделан вывод о биоаналогичности исследуемого отечественного препарата «Трастузумаб» и оригинального препарата сравнения.

Общие выводы, представленные в заключительной части диссертационной работы, полностью соответствуют поставленной цели и задачам исследования, являются обоснованными и логически вытекают из содержания работы.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат в полной мере отражает содержание диссертационной работы, а также включает в себя все основные положения и выводы, полученные Колгановой М.А. в ходе проведения исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Колгановой Марии Алексеевны является самостоятельным, последовательным, законченным, логически структурированным научным исследованием. Тем не менее, наряду с общим положительным впечатлением от работы, в ходе ознакомления с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Какие физико-химические различия в структуре описаны между трастузумабом в оригинальном препарате и трастузумабом в биоаналоге «Трастузумаб» (ООО «Мабскейл», Россия)? Проводились ли такие исследования или описаны другими исследователями?

2. Какие методики применяются для проведения биоаналитического этапа клинических исследований новых биоаналогов трастузумаба в России и за рубежом (например, одобренных FDA)? Что нового в разрабатываемых Вами методиках?

3. В ИФА были использованы как отечественные реактивы и наборы, так и импортные. Наблюдал ли автор принципиальные качественные отличия между ними и каковы перспективы, по мнению автора, полного замещения импорта в расходном материале в ИФА?

4. Какие еще варианты пробоподготовки, помимо предлагаемой кислотной диссоциации биологических образцов, описаны? В чем преимущество предлагаемой пробоподготовки?

5. Почему для методики определения анти-лекарственных антител используется термин «полуколичественная», хотя сама методика, описанная в работе, по своей сути является качественной?

6. Может ли при проведении предложенной пробоподготовки биологических образцов с кислотной диссоциацией происходить повторное связывание антител со свободным препаратом после нейтрализации смеси в планшете на первом этапе? Как в таком случае данное связывание может отразиться на значениях иммуногенности?

7. Исходя из чего были выбраны концентрации трастузумаба в модельных образцах при проведении оценки устойчивости методики полуколичественного определения анти-лекарственных антител к препарату?

8. Какой именно метод трапеций (линейный или линейно-логарифмический) был использован в работе для расчета площади под фармакокинетической кривой и чем был обусловлен выбор?

Следует отметить, что вышеуказанные замечания носят дискуссионный характер и не снижают ценность проведенного исследования.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Колгановой Марии Алексеевны на тему: «Разработка методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу в биологических объектах методом ИФА» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи по разработке биоаналитических методик, позволяющих провести аналитическую часть сравнительных клинических исследований биоаналогичности с дальнейшей оценкой фармакокинетики и иммуногенности биологических препаратов, что имеет существенное значение для фармацевтической химии и фармакологии и соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора №0692/Р от 06.06.2022 года

(с изменениями, утвержденными: приказом ректора №1179 от 29.08.2023 г., приказом Сеченовского Университета №0787/Р от 24.05.2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Колганова Мария Алексеевна, заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой фармацевтического анализа федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор фармацевтических наук (3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия; 3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология), профессор


Михаил Валерьевич Белоусов


ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ
Заведующий кафедрой фармацевтического анализа
М.В. Терехова
20 24

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России;
634050, Российская Федерация, Томская область, г. Томск, Московский тракт, д. 2
тел. 8 (3822) 901-101 доб. 1820
e-mail: mvb63@mail.ru