

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора химических наук, профессора Гармонова Сергея Юрьевича на диссертацию **Черепушкина Станислава Андреевича «Разработка кандидатной вакцины на основе вирусоподобных частиц для профилактики ротавирусной инфекции»**, представленную в диссертационный совет ПДС 0300.021 на базе ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы (РУДН) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы. Обеспечение на территории Российской Федерации производства качественных, эффективных и безопасных лекарственных средств, в том числе иммунобиологических препаратов, для удовлетворения потребности системы здравоохранения и реализации экспортного потенциала является приоритетом современной стратегии развития фармацевтической промышленности нашей страны. Актуальность диссертационной работы определяется необходимостью совершенствования нормативной базы и методологического обеспечения методов контроля при производстве вакцин на основе вирусоподобных частиц (VLP) — перспективного класса иммунобиологических лекарственных препаратов. В действующей Государственной фармакопее РФ (XV издание) представлены общие фармакопейные статьи для иммунобиологических препаратов, однако отсутствуют специализированные требования, регламентирующие ключевые аспекты контроля качества VLP-вакцин.

Контроль качества VLP-вакцин требует комплексного применения биохимических, биофизических и биологических методов. При подтверждении их подлинности необходимо оценивать не только белковый состав частиц, но и пространственную структуру, а также их размер. Для количественных определений широко используются иммуноферментный анализ (ИФА), электрофорез с иммуноблоттингом, различные виды хроматографии. Особую значимость имеет оценка специфической активности VLP-вакцин — их способности индуцировать специфический иммунный ответ. На практике это реализуется через иммунизацию лабораторных животных с последующим измерением титра специфических антител методом ИФА. При этом очень важен контроль чистоты препарата, включающий выявление родственных компонентов (неправильно собранные или деградировавшие частицы, агрегаты VLP) и посторонних примесей (белки клеток-хозяина, остаточная ДНК штамма продуцента).

Таким образом, стандартизация VLP-вакцин охватывает широкий круг задач, в частности, разработку методик оценки морфологии и размера частиц; разработку протоколов аттестации вирусных банков; создание подходов к контролю остаточных примесей. Диссертационное исследование Черепушкина Станислава Андреевича, направленное на разработку и стандартизацию технологий получения и контроля качества VLP-вакцин,

отвечает актуальным потребностям фармацевтической науки и здравоохранения.

Достоверность и новизна результатов диссертации. Достоверность проведённого исследования обусловлена комплексным применением современных аналитических методов. Автор использовал современное оборудование и валидированные методики, соответствующие требованиям Государственной фармакопеи РФ, что гарантирует соответствие работы принятым стандартам качества. Для контроля качества рекомбинантных бакуловирусов и вирусоподобных частиц задействован комплекс взаимодополняющих методов: от ПЦР с электрофоретической детекцией и секвенирования до ИФА, иммуноблоттинга, трансмиссионной электронной микроскопии и динамического светорассеяния.

Новизна исследования определяется рядом существенных научных и технологических достижений. Во-первых, разработана технология получения и методы контроля рекомбинантных бакуловирусов с клонированными генами белков ротавируса А генотипов, распространённых в РФ. Во-вторых, впервые получены трёхслойные VLP, воспроизводящие структуру вириона ротавируса А и содержащие важнейшие антигенные детерминанты (VP2, VP6, VP4, VP7) для генотипов G1, G2, G4, G9, P4, P8. В-третьих, предложен оригинальный метод контроля чистоты биотехнологических продуктов на основе ПЦР в реальном времени, позволяющий детектировать остаточную ДНК клеток *Trichoplusia ni*. В-четвёртых, созданы специализированные методики стандартизации производственного процесса и готового препарата, которые использованы в нормативной документации для регистрации отечественной VLP-вакцины.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Обоснованность научных выводов, сформулированных в диссертации Черепушкина С. А., подтверждается строгой методологией исследования и комплексным подходом к экспериментальной работе. Автор использовал современное аттестованное оборудование и стандартизированные методы анализа, соответствующие требованиям Государственной фармакопеи РФ. Структура диссертационной работы логична и соответствует поставленным целям и задачам. Выводы, сформулированные в заключении, напрямую вытекают из полученных экспериментальных. Основные положения исследования были доложены на научных конференциях и нашли отражение в публикациях, в том числе в журналах, индексируемых в международных базах цитирования.

Ценность для науки и практики результатов работы. Теоретическая значимость работы состоит в разработке комплексного подхода к производству и стандартизации VLP-вакцин: изучение генетического разнообразия ротавирусов, конструирование рекомбинантных бакуловирусов с оптимизированными последовательностями генов ротавируса А, создание и контроль качества банков рекомбинантных бакуловирусов, разработка методов получения и очистки вирусоподобных частиц, валидации

аналитических методик контроля качества, изучение иммуногенности кандидатной вакцины на животных моделях.

На практическом уровне исследование уже нашло применение. Методы стандартизации и контроля качества, предложенные автором, включены в промышленные регламенты (ПР № 01894956-229-22 и № 01894956-231-22) и нормативную документацию вакцины «Гам-VLP-рота». Также автором создана инновационная тест-система на основе ПЦР в реальном времени для выявления остаточной ДНК клеток *Trichoplusia ni*. Этот метод имеет широкую область применения: он может использоваться как универсальный инструмент контроля качества биотехнологических препаратов, производимых с применением культур клеток насекомых. Таким образом, результаты исследования не только решают конкретную задачу разработки вакцины против ротавируса, но и создают методологическую базу для других направлений биофармацевтики.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати. По теме диссертации соискатель имеет 8 научных работ, из них 6 статей, опубликованных в научных изданиях, индексируемых в международных базах цитирования Scopus и CAS, а также 2 патента. Результаты диссертационной работы были доложены на следующих конференциях: «International Conference "Perspective technologies in vaccination and immunotherapy"; Satellite Symposium "Viral infections and cancer, openings for vaccines», Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы профилактики инфекционных и неинфекционных болезней: эпидемиологические, организационные и гигиенические аспекты», на XXI Конгрессе детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики. Детские инфекции», на Первом Российском конгрессе по медицинской микробиологии и инфектологии, на VII съезде биофизиков России.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации. Содержание автореферата полностью соответствует выводам диссертации и отражает основные ее положения. Автореферат и диссертация соответствуют научной специальности 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Замечания по работе. Возражений принципиального характера к диссертационной работе у оппонента не имеется. Вместе с тем необходимо высказать ряд замечаний и пожеланий к рецензируемой работе:

1. Какие хроматографические методы могут быть использованы для очистки частиц от белков клеток насекомых и других неродственных примесей?

2. Описание получения образцов от пациентов (разд. 2.1) желательно было дополнить их характеристиками (возраст, пол и т.д.) при проведении филогенетических исследований.

3. При представлении результатов валидации методики определения остаточной ДНК клеток насекомых в конечном продукте (табл. 11-14) имеет смысл проводить округление результатов с учетом значащих цифр.

4. В работе иногда встречаются опечатки в тексте и отдельные неудачные выражения.

Указанные замечания никоим образом не снижают научной и практической ценности рецензируемой диссертации.

Заключение. Диссертационное исследование Черепушкина Станислава Андреевича «Разработка кандидатной вакцины на основе вирусоподобных частиц для профилактики ротавирусной инфекции» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи по разработке методов контроля качества VLP-вакцин, имеющей важное значение для фармацевтической науки. Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Черепушкин Станислав Андреевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент.

Профессор кафедры аналитической химии,
сертификации и менеджмента качества
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Казанский национальный
исследовательский технологический университет»,
доктор химических наук
(15.00.02 – фармацевтическая химия,
фармакогнозия), профессор

Гармонов Сергей Юрьевич

420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 68, Телефон: 8(843)231-89-10
Электронная почта: GarmonovSYu@corp.knrtu.ru

