

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

Беризовской Елены Игоревны

на тему

Разработка унифицированного способа установления подлинности лекарственных средств пептидной и белковой природы методом масс-спектрометрии высокого разрешения

на соискание ученой степени кандидата химических наук

по специальности: 02.00.02 – Аналитическая химия

Работа, выполненная Беризовской Еленой Игоревной является, безусловно, интересной и актуальной. В последние годы появляется все больше лекарственных препаратов на основе пептидов и белков, в то время как существующие методы оценки подлинности и качества препаратов зачастую отстают от последних достижений медицины просто ввиду необходимости бюрократизации и тщательного изучения аналитических методик до их внедрения в практику. В то же время, современные лекарственные препараты, например, пептид-белковой природы, не могут быть эффективно проанализированы старыми подходами. В частности, в принципе не существует методов валидации полной аминокислотной последовательности белковых препаратов. А при использовании, например, рекомбинантно полученных белков, внесение ошибок в последовательность аминокислот вполне вероятно. Такие ошибки могут не сказываться на целевой активности препарата (которая будет проверена в ходе разработки), но могут также приводить к появлению новых активностей и новых свойств белков, которые, в свою очередь, уже проверены не будут, поскольку они заранее не могут быть предсказаны. Работа Елены Игоревны как раз направлена на заполнение этого пробела, а именно на создание метода валидации последовательности пептид-белковых препаратов с использованием современного хромато-масс-спектрометрического подхода. Особенно хотелось бы выделить изучение влияния на процесс протеолиза наличия добавок в лекарственных формах по сравнению с чистыми биологическими препаратами. Было бы, конечно, также интересно и

очень ценно провести направленное изучение влияния конкретных наиболее часто используемых в пептид-белковых лекарственных препаратах добавок.

К деталям работы, само собой, есть ряд замечаний и предложений:

1. Так, например, автор работы использовал для предварительной оценки наличия пептидно-белковой материи в образце метод измерения концентрации белков по Бредфорду. В качестве альтернативы, когда в образце отсутствуют остатки аргинина и циклических аминокислот, автор работы предлагает использовать прямой спектрофотометрический анализ образца при 200-220, где поглощает пептидная связь. Насколько я понимаю, для любого лекарственного препарата должны быть указаны концентрации действующих компонентов. Таким образом, по измерению концентрации (методом Бредфорда или как-либо еще) можно оценить не просто наличие пептидно-белковой материи, но и соответствие заявленной концентрации (хотя, конечно, измерение концентрации пептидов такими методами дает не очень точные результаты). Вызывает сомнение второй метод оценки. При 200-220 нм могут поглощать вещества совсем даже не пептидной природы, таким образом, наличие поглощения ни на что указывать не будет. Хотя, конечно, отсутствие поглощения, действительно, будет указывать на отсутствие материи в случае соответствия чувствительности детекции предполагаемой концентрации аналита. Не ясно, почему автор не использовал альтернативные методы измерения концентрации белков, такие как, например, Лоури или бицинхолиновая кислота. Кроме того, в ряде случаев можно использовать спектрофотометрическую оценку концентрации анализируемого вещества по поглощению при 280 нм, вычислив на основании последовательности молярный коэффициент экстинкции. Современные хромато-масс-спектрометрические подходы – это актуально, но не имеет смысла отказываться от давно разработанных методов только на основании их древности.
2. Одним из методов оценки подлинности препаратов автор предлагает использовать определение массы исходных компонентов с использованием масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией электроспреем с точностью определения массы вещества ± 5 ppm. С учетом того, что при изменении атомарного состава масса вещества не может меняться менее чем на 1 Да, не очень понятна необходимость

такой высокой точности. Абсолютно аналогичные по смыслу результаты с препаратами, использованными в работе, можно было бы получить с использованием гораздо более дешевого, быстрого и простого MALDI TOF анализа (хотя, конечно, ни ионизация электроспреем, ни MALDI ионизация не являются полностью универсальными и целесообразность применения того или иного метода должна быть оценена для конкретных активных компонентов лекарственных препаратов).

3. Также по результатам работы (подбор условий пробоподготовки и хромато-масс-спектрометрического анализа) напрашивается мысль о разработке на основе полученных результатов протоколов не только для валидации лекарственных препаратов в принципе (соответствия препарата заявленному составу), но и для создания методов проверки качества, например, отдельных партий препаратов с целью выявления, в частности, контрафактной продукции. Такой анализ может быть проведен по детекции характеристических для препаратов пептидов с использованием более простых масс-спектрометрических приборов с архитектурой тройного квадрупольа.

В целом, автором была выполнена большая и интересная работа по разработке методов валидации подлинности лекарственных средств белково-пептидной природы на примере различных вариантов инсулин-содержащих лекарственных препаратов. Исходя из результатов работы, а именно как обнаружения просто откровенных фальсификатов, так и препаратов с низкой степенью очистки, содержащих посторонние компоненты с, возможно, неизвестной потенциально-опасной активностью, хотелось бы, чтобы на эти результаты обратили внимание соответствующие контролирующие органы. Работа ясно доказывает как необходимость подобного анализа, так и необходимость введения подобного анализа в практику лабораторий соответствующих контролирующих ведомств.

Несмотря на наличие замечаний, которые являются, скорее, дополнениями и предложениями для дальнейшего развития работы, по моему мнению, автор, безусловно, заслуживает присвоения степени кандидата химических наук.



Ковальчук Сергей Игоревич,

к.х.н., специальность 02.00.10 – Биоорганическая химия

научный сотрудник лаборатории протеомики

Института Биоорганической Химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

адрес: 117485 г. Москва, ул. Профсоюзная 98 корп. 6. кв. 65

телефон: +79262684230

e-mail: xerx222@gmail.com

Ученый секретарь ИБХ РАН,

д. физ.-мат. н.

Олейников В.А.

