

Отзыв

на автореферат диссертационной работы
Беризовской Елены Игоревны «Разработка унифицированного способа
установления подлинности лекарственных средств пептидной и белковой
природы методом масс-спектрометрии высокого разрешения», представленной
на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности
02.00.02 – Аналитическая химия

С развитием молекулярной биологии и биотехнологии стало появляться большое количество лекарственных препаратов на основе белков и пептидов. Они являются достаточно эффективными при соблюдении технологии производства, то есть сохранении их физико-химических свойств и аминокислотной последовательности. При нарушении их свойств изменяется не только эффективность фармакологического воздействия, но возможен и удручающий эффект. Для контроля этих свойств в мировой практике уже давно внедряются различные методики, которые основываются на методах электрофореза, ИК-спектроскопии, высокоэффективной жидкостной хроматографии. В Российской Федерации такого рода методики являются частными исследовательскими процедурами, зачастую, направленными на решение какой-нибудь конкретной задачи.

В связи с выше сказанным, диссертационная работа Беризовской Е.И. посвящена актуальной задаче – разработке унифицированного способа установления подлинности лекарственных средств пептидной и белковой природы путем их протеолиза с применением различных ферментов и их комбинаций и последующим определением продуктов деградации методами высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением тандемного масс-спектрометрического детектирования, а также постадийной экспериментальной оценке разработанного способа.

Несомненной является и научная новизна работы, которая отражена в следующих положениях.

1. Разработан унифицированный способ установления подлинности лекарственных средств пептидной и белковой природы, предусматривающий:

– предварительную экспресс-индикацию наличия соединений пептидной и белковой структуры в ЛС спектрофотометрическим методом;

– установление моноизотопной молекулярной массы действующих веществ лекарственных средств методом масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией электрораспылением;

– установление аминокислотной последовательности действующих веществ лекарственных средств с использованием химических (восстановление дисульфидных связей, модификация сульфгидрильных групп), биохимических (ферментативное расщепление с применением набора специфических протеаз) и инструментальных методов (ВЭЖХ, тандемная масс-спектрометрия на основе двух стратегий установления аминокислотной последовательности).

2. Разработан способ подготовки проб лекарственных средств для идентификации аминокислотной последовательности методом ВЭЖХ-МС/МС с использованием пяти протеаз (Asp-N, Arg-C, Glu-C, Lys-C, трипсин) и их комбинаций (Glu-C и трипсин, Asp-N и трипсин). Показано увеличение количества специфических пептидов в среднем в 2,7 раза при использовании предложенного набора протеаз и их комбинаций по сравнению с принятой методикой трипсинолиза.

3. Выявлено, что вспомогательные компоненты готовых форм лекарственных средств способны замедлять процессы ферментативного расщепления действующих веществ лекарственных средств пептидной и белковой природы. Установлено, что для увеличения полноты ферментативного расщепления готовых форм лекарственных средств пептидной и белковой природы требуется повышение температуры с 37 до 40-45 °С, увеличение продолжительности реакции ферментативного расщепления с 2-4 до 6 ч.

4. Оптимизированы параметры тандемного масс-спектрометрического детектирования с ионизацией электрораспылением при атмосферном давлении в режиме интеллектуального управления измерениями. Установлено, что при значениях энергии диссоциации (30 ± 15) %, диапазона детектируемых зарядовых состояний 2-6, времени накопления ионов в ловушке 100 мс, ширины изоляции масс 2 m/z, длительности динамического исключения 60 мс, количества ионов в орбитальной ионной ловушке 5×10^5 , диапазона сканирования детектируемых ионов 300-2000 m/z достигается 100 % степень идентификации аминокислотной последовательности действующих веществ ЛС. Показано, что выбранные условия применимы для масс-спектрометров разных типов. Данный факт свидетельствует о принципиальной возможности автоматизации процесса масс-спектрометрического анализа лекарственных средств пептидной и белковой природы.

Важным практическим результатом работы является разработка и аттестация методик идентификации рекомбинантного инсулина человека, инсулина лизпро, инсулина аспарт, инсулина гларгин и рекомбинантного соматотропного гормона человека в лекарственных средствах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием, которые могут лечь в основу фармакопейных статей и универсальной методики контроля качества лекарственных препаратов на основе белков и пептидов.

Структура автореферата логически правильная, выводы соответствуют защищаемым положениям, целям и задачам диссертационной работы. Количество и качество публикаций по теме диссертации соответствует требованиям ВАК РФ. Никаких серьезных замечаний по содержанию автореферата нет.

Исходя из вышеизложенного можно заключить, что диссертация Беризовской Е.И. «Разработка унифицированного способа установления подлинности лекарственных средств пептидной и белковой природы методом масс-спектрометрии высокого разрешения» является законченной научно-

квалификационно работой, выполненной на высоком научном уровне, отвечает паспорту специальности 02.00.02 – Аналитическая химия и соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор, Беризовская Елена Игоревна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Заместитель директора по науке
д.м.н., профессор

« » декабря 2015 г.



В.Д. Гладких

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-производственный центр «Фармзащита»
Федерального медико-биологического агентства
141402 Московская область, г. Химки, Вашутинское шоссе, д. 11
+7 (495) 789-65-55

Подпись заместителя директора по науке ФГУП НПЦ «Фармзащита»
ФМБА России В.Д. Гладких заверяю.

Начальник отдела кадров ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России

Л.В. Журавлёва

