

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной деятельности
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
доктор медицинских наук, профессор

Т.А. Демура



20 24 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)**

на основании решения заседания кафедры фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Диссертация «Разработка методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу в биологических объектах методом ИФА» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук выполнена на кафедре фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева Института Фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Колганова Мария Алексеевна, 1996 года рождения, гражданство Российской Федерации, окончила федеральное государственное автономное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства

здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) в 2018 году по специальности «Фармация».

В 2023 году прикреплена для подготовки диссертации на соискание ученой степени кандидата наук без освоения программ подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 037/11/23 от 18 октября 2023 года выдана в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России).

С 01.02.2023 года работает в должности заведующего лабораторией в обществе с ограниченной ответственностью «Мабскейл» по настоящее время.

Научные руководители:

Раменская Галина Владиславовна, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Шохин Игорь Евгеньевич, доктор фармацевтических наук, генеральный директор общества с ограниченной ответственностью «Центр фармацевтической аналитики».

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Разработка методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу в биологических объектах методом ИФА», представленного на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, принято следующее заключение:

- **Оценка выполненной соискателем работы**

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 по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология представляет собой законченное, самостоятельное исследование, полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и может быть представлена к защите.

В диссертационной работе проведена разработка и валидация биоаналитических методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу методом иммуноферментного анализа, а также, с использованием разработанных методик, изучена фармакокинетика и иммуногенность препарата-биоаналога отечественного производства на основе молекулы трастузумаба и проведена сравнительная оценка его биоаналогичности в рамках клинических исследований I фазы.

- **Актуальность темы диссертационного исследования**

Онкологические заболевания занимают одну из лидирующих позиций в списке основных причин смертности во всем мире. По данным различных международных организаций число вновь выявленных случаев рака неуклонно растет от года к году. В России также ежегодно отмечается рост вновь выявленных случаев онкозаболеваний, как среди мужчин, так и среди женщин. Одно из ведущих мест в структуре онкологических заболеваний занимает рак молочной железы (РМЖ) – самый распространенный вид рака у женщин.

HER2 положительный подтип рака молочной железы (HER2 – человеческий рецептор эпидермального фактора роста второго типа) – один из четырех подтипов РМЖ, который до начала 2000-х годов считался наиболее неблагоприятным по прогнозу для пациенток. Однако ситуация радикально изменилась с открытием препаратов HER2-направленной терапии. Биологические (в том числе биотехнологические) лекарственные препараты

(ЛП) таргетной терапии HER2+ подтипа РМЖ стали своего рода «золотым стандартом» адъювантной и неадъювантной терапии опухолей, и первым представителем подобных препаратов на фармацевтическом рынке стало гуманизированное моноклональное антитело (МкАТ) трастузумаб. Введение трастузумаба в клиническую практику значительно улучшило общую выживаемость и прогноз для пациенток с HER2+ подтипом РМЖ. Тем не менее, наряду с высокой эффективностью и хорошим профилем безопасности трастузумаба, он, как и многие другие биологические препараты класса МкАТ, имеет довольно высокую стоимость курса терапии, что может ограничивать доступ пациентов к препарату.

В настоящий момент в России пациенткам с РМЖ доступен оригинальный лекарственный препарат Герцептин® (международное непатентованное наименование: трастузумаб), производства Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд., а также два его биоаналога. При этом лишь один из них, препарат Гертикад®, имеет полный производственный цикл на территории России. Стоит отметить, что трастузумаб и некоторые препараты на его основе входят в Перечень стратегически значимых лекарственных средств, производство которых должно быть обеспечено на территории Российской Федерации и в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения. Таким образом, принимая во внимание общий курс российской фармацевтической промышленности на импортозамещение лекарственных препаратов, задача разработки и регистрации отечественных биоаналогов, и, в частности, биоаналогов на основе молекулы трастузумаба, представляется крайне актуальной.

Проведение сравнительных клинических исследований (КИ) биоаналогичности – неотъемлемая часть процесса регистрации и вывода биоаналоговых препаратов на рынок. Поэтому актуальным также остается вопрос разработки и валидации биоаналитических методик, позволяющих провести аналитическую часть таких исследований – анализ исследуемых образцов добровольцев или пациентов, наиболее часто представляющих собой

сыворотку крови, с целью дальнейшей сравнительной оценки фармакокинетики и иммуногенности биоаналоговых лекарственных препаратов.

- **Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации**

Автору принадлежит ведущая роль в планировании и проведении экспериментальных исследований, а также в обобщении и анализе полученных результатов. Автором лично проведена разработка и валидация методик количественного определения трастузумаба и полуколичественного определения анти-лекарственных антител к трастузумабу в сыворотке крови человека, а также выполнен анализ исследуемых образцов добровольцев-участников сравнительного клинического исследования биоаналогичности, с дальнейшей обработкой полученных результатов с целью установления биоаналогичности сравниваемых препаратов.

- **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

В ходе проведения исследования был выполнен достаточный объем испытаний, экспериментальные данные были получены методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием современного сертифицированного оборудования. Все первичные данные исследования, положенные в основу диссертационной работы, являются достоверными, что подтверждается актом проверки первичной документации. Использованное в ходе проведения работы измерительное оборудование внесено в Государственный Реестр средств измерения и имеет действительный статус поверки. Разработанные методики количественного определения трастузумаба и полуколичественного определения анти-лекарственных антител к трастузумабу были подвергнуты полной валидации в соответствии с актуальными нормативными документами, при этом все изученные валидационные характеристики методик удовлетворяли критериям приемлемости соответствующих руководств, что позволяет считать получаемые с помощью валидированных методик данные воспроизводимыми, точными и достоверными. Полученные в ходе выполнения работы

экспериментальные данные были подвергнуты статистической обработке с использованием общепринятых современных подходов (описательные статистики, дисперсионный анализ) в программном обеспечении Statistica®, MS Excel 2021 и R.

- **Научная новизна результатов проведенных исследований**

В ходе выполнения работы разработаны и валидированы методики количественного определения трастузумаба и полуколичественного определения анти-лекарственных антител к трастузумабу в биологических объектах (в сыворотке крови человека) методом ИФА со спектрофотометрическим детектированием. Для методики полуколичественного определения лекарственных антител к трастузумабу предложена пробоподготовка образцов сыворотки крови с кислотной диссоциацией и аффинным отделением интерферирующего препарата, позволяющая увеличить вероятность детектирования анти-лекарственных антител методом ИФА в присутствии высоких концентраций трастузумаба. Разработанные методики использованы для определения концентрации препарата-биоаналога «Трастузумаб» и выявления наличия/отсутствия анти-лекарственных антител к нему в образцах сыворотки крови субъектов сравнительного клинического исследования биоаналогичности. На основании данных о концентрации трастузумаба, полученных при анализе биологических образцов, изучена фармакокинетика препарата-биоаналога «Трастузумаб» (производства общества с ограниченной ответственностью «Мабскейл», Россия), а также проведена оценка фармакокинетической эквивалентности (биоаналогичности) исследуемого препарата и препарата сравнения. В части оценки безопасности, в ходе проведения исследования впервые изучена иммуногенность исследуемого препарата-биоаналога «Трастузумаб».

- **Практическая значимость проведенных исследований**

Разработанная методика количественного определения трастузумаба в сыворотке крови человека характеризуется широким аналитическим диапазоном, достаточной чувствительностью, а также простотой выполнения и

высокой производительностью анализа. Для методики определения анти-лекарственных антител автором предложена специальная пробоподготовка биологических образцов, включающая этапы кислотной диссоциации и аффинного отделения интерферирующего препарата, которая позволяет детектировать анти-лекарственные антитела в присутствии высоких концентраций трастузумаба. С помощью разработанных методик была изучена фармакокинетика и иммуногенность препарата-биоаналога «Трастузумаб» (производства общества с ограниченной ответственностью «Мабскейл») и установлена биоаналогичность исследуемого препарата и препарата сравнения в рамках клинического исследования I фазы. Внедрение результатов исследования в регистрационное досье препарата «Трастузумаб» (общества с ограниченной ответственностью «Мабскейл», Россия) способствует его регистрации, а следовательно, повышению доступности HER-2 направленной терапии для пациенток.

- **Ценность научных работ соискателя ученой степени**

Ценность выполненной работы заключается в возможности использования разработанных методик количественного определения трастузумаба и полуколичественного определения анти-лекарственных антител к трастузумабу не только для анализа образцов субъектов клинических исследований, включая исследования III фазы и пострегистрационные исследования, но и для терапевтического лекарственного мониторинга трастузумаба при многократном введении пациенткам согласно клиническим рекомендациям, для оценки эффективности и иммуногенности (как составной части оценки безопасности) HER2-направленной терапии трастузумабом. Кроме того, предложенная в диссертационной работе методика пробоподготовки образцов с кислотной диссоциацией и аффинным отделением интерферирующего препарата может быть использована для выявления анти-лекарственных антител к другим биологическим препаратам на основе технологии МкАТ.

- **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

Основные результаты, научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Колгановой Марии Алексеевны на тему «Разработка методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу в биологических объектах методом ИФА» внедрены в научно-практическую деятельность исследовательского центра общества с ограниченной ответственностью «Центр фармацевтической аналитики» (акт б/н от 25.08.2023 г.), исследовательского центра общества с ограниченной ответственностью «Сайнтифик Комплайнс» (акт б/н от 04.12.2023 г.), а также внесены обществом с ограниченной ответственностью «Мабскейл» в регистрационное досье препарата «Трастузумаб» в рамках проведения клинического исследования I фазы (акт б/н от 22.09.2023 г.).

- **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

Научные положения диссертации Колгановой Марии Алексеевны на тему: «Разработка методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу в биологических объектах методом ИФА» соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, пункту 4 (разработка методов анализа лекарственных веществ и их метаболитов в биологических объектах для фармакокинетических исследований, эколого-фармацевтического мониторинга, судебно-химической и наркологической экспертизы), а также соответствуют паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, пункту 11 (исследование биоэквивалентности лекарственных средств у здоровых добровольцев и пациентов).

- **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

По материалам исследования автором было опубликовано 8 печатных работ, из них 4 научные статьи в изданиях, индексируемых в международной базе данных Scopus, 3 иные публикации по теме диссертационного

исследования, а также 1 публикация в сборнике материалов международной научно-практической конференции.

Оригинальные научные статьи в журналах, включенных в международную индексируемую базу данных Scopus:

1. **Колганова, М.А.** Оценка биоаналогичности и иммуногенности препаратов «Трастузумаб» (ООО «Мабскейл», Россия) и «Герцептин®» (F. Hoffmann-La Roche Ltd., Швейцария) в рамках двойного слепого рандомизированного сравнительного клинического исследования I фазы с участием здоровых добровольцев / **М.А. Колганова**, Е.Е. Бекетов, В.В. Писарев [и др.] // **Разработка и регистрация лекарственных средств.** – 2023. – Том 12. – № 3. – С. 240-249. DOI: <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-3-240-249>. [ВАК]

2. **Колганова, М.А.** Разработка и валидация методики определения нейтрализующих антител к трастузумабу в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа / **М.А. Колганова**, О.С. Сагимбаева, Ю.С. Борисова [и др.] // **Разработка и регистрация лекарственных средств.** – 2023. – Том 12. – № 2. – С. 190-197. DOI: <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-2-190-197>. [ВАК]

3. **Колганова, М.А.** Разработка и валидация методики количественного определения рекомбинантного гетеродимерного белка RPH-104 в сыворотке крови как инструмента персонализации фармакотерапии / **М.А. Колганова**, Е.В. Мельник, Е.Н. Фишер, [и др.] // **Химико-фармацевтический журнал.** – 2022. – Том 56. – № 12. – С. 66-70. DOI: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-12-66-70>. [ВАК]

4. **Kolganova, M.A.** Affinity Capture Elution (ACE) ELISA Method Development and Validation for Novel RPH-104 Drug Immunogenicity Evaluation / **M.A. Kolganova**, E.V. Melnik, E.N. Fisher [et al.] // **Biomedicines.** – 2022. – Vol.10 № 11. – Art. 2750. – P. 15 DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10112750>.

Иные публикации по теме диссертационного исследования:

1. Разработка и валидация методики определения антител к трастузумабу в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа / О.А. Елисеева, **М.А. Колганова**, И.Е. Шохин [и др.] // **Разработка и регистрация лекарственных средств.** – 2022. – Том 11. – № S4. – С. 120-127. DOI: [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-120-127](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-120-127). [Scopus]
2. Андрусова, Н.Н. PD-L1 как потенциальная мишень в противораковой терапии (обзор) / Н.Н. Андрусова, **М.А. Колганова**, А.В. Алешина, И.Е. Шохин // **Разработка и регистрация лекарственных средств.** – 2021. – Том 10. – № 1. – С.31-36. DOI: <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-31-36>. [Scopus]
3. **Колганова, М.А.** Сравнительное исследование фармакокинетики и иммуногенности препарата-биоаналога бевацизумаба (RPH-001, АО «Р-Фарм», Россия) и оригинального биотехнологического препарата Авастин® (Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд., Швейцария) в параллельных группах при однократном внутривенном введении у здоровых добровольцев / **М.А. Колганова**, Н.С. Багаева, Ю.В. Медведев [и др.] // **Разработка и регистрация лекарственных средств.** – 2019. – Том 8. – № 3. – С.91-100. DOI: <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2019-8-3-91-100>.

Материалы конференций по теме диссертационного исследования:

- 1) **Колганова, М.А.** Моноклональные антитела: современная классификация и области применения / **М.А. Колганова** // Гармонизация подходов к фармацевтической разработке: сборник тезисов III Международной научно-практической конференции. Москва, РУДН. 25 ноября 2020 г. – М.: РУДН, 2020. – С. 16-20.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:

- 1) III Международная научно-практическая конференция «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке» (Москва, ноябрь 2020 г.);

2) Ежегодная конференция с международным участием «Разработка и регистрация биотехнологических лекарственных средств» (Москва, июнь 2021 г.);

3) IV ежегодная международная научная конференция «IPharmS Annual Conference» (Иран, онлайн, февраль 2022 г.);

4) Ежегодная научно-практическая конференция «Разработка и регистрация биотехнологических лекарственных средств» (Москва, июнь 2022 г.);

5) V ежегодная конференция СТРФ-2022: Регистрация и клинические исследования в ЕАЭС (Москва, июнь 2022 г.);

6) III международный российско-китайский симпозиум молодых ученых (Москва, декабрь 2022 г.).

Заключение

Диссертация соответствует требованиям п. 21 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом от 06.06.2022 г. № 0692/Р, и не содержит заимствованного материала без ссылки на автора(ов).

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Колгановой Марии Алексеевны «Разработка методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу в биологических объектах методом ИФА» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия; 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Заключение принято на заседании кафедры фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева Института фармации

имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет).

Присутствовало на заседании 21 чел.

Результаты голосования: «за» – 21 чел., «против» – 0 чел.,
«воздержалось» – 0 чел., протокол № 1 от 28 августа 2024 г.

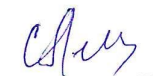
Председательствующий на заседании

Доктор фармацевтических наук
(3.4.2. – Фармацевтическая химия, фармакогнозия,
3.3.6. – Фармакология, клиническая
фармакология),
доцент, профессор кафедры фармацевтической и
токсикологической химии
имени А.П. Арзамасцева
Института фармации имени А.П. Нелюбина
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет)



В.В. Смирнов

Доктор биологических наук
(3.3.6. – Фармакология, клиническая
фармакология),
доцент, профессор кафедры фармакологии
Института фармации имени А.П. Нелюбина
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет)



С.А. Лебедева