ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук, профессора **Калениковой Елены Игоревны** на диссертацию **Леденева Олега Владимировича** на тему «**Разработка экспресс-методов контроля качества водных растворов пептидов**», представленную в диссертационный совет ПДС 0300.021 на базе ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы

Современные лекарственные препараты на основе пептидов требуют многоуровневой аналитической стратегии, в которой подтверждение химической идентичности и количественного содержания дополняется оценкой физико-химического состояния препарата, его структурной устойчивости и склонности к ассоциации. Высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия и другие селективные методы остаются основой подтверждающего фармацевтического анализа, однако их применение обычно связано с пробоподготовкой и не всегда рационально для быстрого скрининга большого числа образцов. Поэтому разработка дополнительных подходов, способных оперативно выявлять характерный аналитический профиль пептидного препарата, представляет актуальную задачу фармацевтической химии.

Диссертационная работа Леденева Олега Владимировича ориентирована именно на такую задачу. В исследовании последовательно использованы несколько взаимодополняющих физических подходов: динамическое лазерное светорассеяние (DLS) - для получения размерных спектров и оценки концентрационно-зависимых изменений водно-пептидных систем; кинетика диффузного отражения света (2D-DLS) - для формирования многопараметрических дескрипторных профилей; регистрация собственного радиотеплового излучения - как дополнительный неразрушающий канал

аналитической информации. Существенным достоинством работы является стремление перевести наблюдаемые физико-химические особенности пептидных растворов в формализованные аналитические признаки, пригодные для сопоставления с референтными данными и применения в контроле качества.

Достоверность и новизна результатов диссертации

Экспериментальная программа охватывает лекарственные олиго- и полипептидные препараты, индивидуальные синтетические олигопептиды и пептидные последовательности растительного происхождения. Для индивидуальных пептидов приведены сведения о твердофазном синтезе, ВЭЖХ-очистке и подтверждении идентичности методом масс-спектрометрии. Такая предварительная характеристика объектов принципиально важна для корректной интерпретации последующих результатов: размерных распределений, получаемых методом DLS, кинетических оптических характеристик 2D-DLS и параметров радиотеплового эмиссии.

Достоверность результатов обеспечена многосерийной постановкой экспериментов и статистической обработкой данных. Методом DLS получены воспроизводимые размерные спектры исследованных пептидных систем, позволяющие сопоставлять гидродинамические характеристики и изменение соотношения регистрируемых фракций при варьировании концентрации. Для параметров 2D-DLS использованы серии по 45 повторных измерений при не менее чем семи экспериментальных сериях; показатели вариабельности не превышают 7% при доверительной вероятности 0,98, а различимость объектов подтверждается совокупностью дескрипторных характеристик, тепловой картой и иерархической кластеризацией. При радиотепловых измерениях контролировались температура, геометрия расположения образца и уровень фонового микроволнового излучения.

Научная новизна работы. С использованием DLS установлены особенности размерных распределений плотностных неоднородностей в водных растворах исследованных пептидов и их зависимость от природы и концентрации

пептидного компонента; размерный спектр использован как аналитическая характеристика при оценке подлинности. Дальнейшее развитие данного подхода реализовано в 2D-DLS, где кинетика диффузного отражения представлена в виде индивидуальных многопараметрических дескрипторных профилей. Новым результатом является также обоснование возможности неразрушающей идентификации ряда пептидных препаратов по радиотепловым характеристикам, в том числе без вскрытия первичной упаковки.

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

Логика исследования соответствует последовательности формирования многоуровневого аналитического подхода. Сначала методом DLS автор определяет гидродинамические размерные характеристики исследуемых пептидных систем и прослеживает концентрационно-зависимое перераспределение нано-, субмикронных и микронных фракций. Затем размерная характеристика дополняется регистрацией кинетического оптического отклика 2D-DLS, его дескрипторным представлением и статистическим сопоставлением исследуемых объектов. Далее рассматриваются валидационные характеристики и алгоритм сравнения неизвестного образца с референтным профилем. Такая структура позволяет проследить переход от первичной физико-химической характеристики препарата к формализованному аналитическому заключению.

Существенно, что автор не ограничивается качественной визуализацией различий. В работе анализируются специфичность, повторяемость, прецизионность получаемых результатов, диапазон применения и устойчивость метода к изменению условий. Дескрипторный профиль рассматривается как совокупный аналитический признак, а не как единичный параметр. Выводы о возможности дифференциации исследованных пептидных препаратов согласуются с представленными экспериментальными данными и результатами статистической обработки.

Обоснованным представляется и разграничение функций разработанных физических подходов и традиционных подтверждающих методов. DLS позволяет оперативно оценивать размерное состояние пептидной системы и выявлять появление дополнительных фракций, тогда как 2D-DLS формирует более сложный многопараметрический профиль, ориентированный на дифференциацию исследуемых объектов по показателю «подлинность». При этом окончательное подтверждение химической идентичности, чистоты и профиля примесей сохраняется за селективными хроматографическими и масс-спектрометрическими методами. Такое сочетание экспресс-оценки физико-химического состояния и референтных испытаний соответствует современной логике фармацевтического контроля качества.

Ценность для науки и практики результатов работы

Практическая ценность диссертации определяется возможностью получать взаимодополняющую информацию о пептидном препарате без сложной пробоподготовки. Метод DLS обеспечивает быстрое получение размерного профиля и может использоваться для выявления изменений гидродинамического состояния, появления дополнительных фракций и признаков ассоциации. 2D-DLS дополняет эту информацию формализованным дескрипторным профилем, пригодным для сопоставления с референтной базой при экспресс-контроле подлинности. Такое сочетание представляет интерес для входного и внутрипроизводственного контроля, а после продукт-специфической валидации - для наблюдения за серийной однородностью и выявления атипичных образцов.

С позиции фармацевтической разработки особый интерес представляет потенциальная стабильностно-информативность совокупности размерных и дескрипторных характеристик. Изменения размерного профиля DLS и многопараметрического отклика 2D-DLS могут быть полезны при оценке влияния технологии, состава вспомогательных веществ, условий и сроков хранения, а также процессов ассоциации или агрегации пептидного компонента. Для

последующего нормативного применения необходимо сформировать продукт-специфические референтные диапазоны на репрезентативном наборе серий и определить критерии интерпретации пограничных и несоответствующих результатов.

Отдельного внимания заслуживает использование радиотеплового канала регистрации. Метод контроля качества лекарственных препаратов, содержащих биологически активные наночастицы, по параметрам их собственного радиотеплового излучения ранее получил самостоятельное научно-методическое обоснование и валидационную оценку. В диссертационной работе О.В. Леденева данный подход получает дальнейшее развитие применительно к водным растворам пептидов и рассматривается как дополнительный аналитический инструмент неразрушающего экспресс-контроля растворов пептидов, в том числе без вскрытия первичной упаковки. Представляется перспективным дальнейшее формирование продукт-специфических критериев приемлемости радиотеплового сигнала для пептидных лекарственных препаратов с учетом характеристик первичной упаковки, геометрии измерения и условий температурной стимуляции.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе статьи в изданиях, индексируемых в международных библиографических базах, и материалы профильных научных конференций. Публикации отражают основные направления исследования: изучение размерных характеристик пептидных систем методом динамического лазерного светорассеяния, разработку подходов к неразрушающему контролю подлинности, использование радиотеплового излучения, свойства биоактивных олигопептидов и анализ наноразмерных фармацевтических объектов. Основные результаты диссертационного исследования получили достаточное отражение в научной печати и прошли апробацию в профессиональной среде.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат адекватно отражает содержание диссертационной работы. В нем представлены актуальность и цель исследования, поставленные задачи, объекты и методы, научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту, основные экспериментальные результаты и выводы. В автореферате последовательно отражены результаты исследования водных растворов пептидов методом динамического лазерного светорассеяния (DLS), включая оценку размерных характеристик, полидисперсности и концентрационно-зависимого формирования плотностных неоднородностей, а также результаты применения 2D-DLS с формированием дескрипторных профилей для дифференциации и контроля подлинности пептидных препаратов. Представлены данные радиотепловых измерений и метрологической оценки разработанных аналитических подходов, а также результаты биологического тестирования Spirotox-тест. Изложение указанных результатов соответствует материалам диссертации.

Замечания по работе

1. Как, по мнению автора, следует распределить функции между DLS и 2D-DLS в многоуровневой стратегии контроля качества пептидного лекарственного препарата: использовать размерный профиль DLS как быстрый индикатор изменения физико-химического состояния, а дескрипторный профиль 2D-DLS - как дополнительный критерий подлинности, либо целесообразна иная схема их совместного применения? В каких случаях полученное отклонение должно подтверждаться селективными методами, такими как ВЭЖХ и масс-спектрометрия?

2. Каким образом целесообразно формировать продукт-специфические границы приемлемости дескрипторного профиля с учетом нормальной межсерийной вариабельности, срока годности и допустимых изменений состава вспомогательных веществ?

3. В какой степени размерные характеристики DLS и дескрипторные параметры 2D-DLS могут рассматриваться как стабильностно-информативные показатели при хранении или стрессовом воздействии на пептидный препарат? Какие ортогональные методы следует использовать для подтверждения того, что выявленное изменение действительно связано с агрегацией, деградацией или иным изменением качества продукта?

4. При регистрации радиотеплового сигнала через первичную упаковку какие характеристики материала и геометрии флакона, толщины стенки, объема заполнения и положения относительно измерительной головки необходимо, по мнению автора, стандартизировать в первую очередь?

Высказанные вопросы имеют уточняющий и дискуссионный характер и касаются преимущественно места разработанных физических методов в многоуровневой системе фармацевтического контроля, продукт-специфической валидации и последующего нормативного оформления. Они не снижают научной и практической значимости выполненного исследования и общей положительной оценки диссертации.

Заключение

Диссертационное исследование Леденева Олега Владимировича «Разработка экспресс-методов контроля качества водных растворов пептидов» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи разработки и научного обоснования экспресс-методов контроля подлинности водных растворов пептидов на основе анализа их размерных, оптических и радиотепловых характеристик, имеющей важное значение для фармацевтической химии и совершенствования системы аналитического контроля качества пептидных лекарственных препаратов. 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, Леденев Олег Владимирович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

заведующая кафедрой фармацевтической химии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины МНОИ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», доктор фармацевтических наук (15.00.02 Фармацевтическая химия и фармакогнозия), профессор

Калеников Елена Игоревна

«23» октября 2026г.

Почтовый адрес организации: 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 27, корп. 1
Контактный телефон: +7 (495) 932-88-14
Адрес электронной почты: eikaleni@fbm.msu.ru

Подпись Калениковой Елены Игоревны подтверждаю:

Декан ФФМ МНОИ МГУ имени М.В.Ломоносова академик РАН В.А. Ткачук