ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук, профессора **Тринеевой Ольги Валерьевны** 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

Для фармацевтической химии и фармакогнозии принципиальное значение имеет не только подтверждение химической идентичности биологически активного вещества, но и оценка физико-химического состояния лекарственной системы, особенно если объект представляет собой водный раствор пептида или многокомпонентный препарат. Пептидные молекулы склонны к ассоциации, а их поведение в водной среде зависит от концентрации, состава матрицы и условий приготовления. В этих условиях динамическое лазерное светорассеяние (DLS), позволяющее непосредственно характеризовать гидродинамические размеры и распределение регистрируемых фракций, представляет существенный интерес для экспресс-оценки состояния пептидных систем и выявления изменений, которые не всегда могут быть охарактеризованы только традиционными методами фармацевтического анализа.

В диссертации Леденева О.В. выстроена последовательная система взаимодополняющих физико-химических исследований. Метод DLS использован для определения гидродинамических размерных характеристик пептидов и изучения концентрационно-зависимого формирования субмикронных и микронных плотностных неоднородностей; 2D-DLS - для регистрации кинетики их формирования и распада и последующего построения многопараметрических

дескрипторных профилей; радиотепловые измерения - как дополнительный неразрушающий канал аналитической информации. Включение в исследование готовых лекарственных олиго- и полипептидных препаратов, индивидуальных олигопептидов и пептидных последовательностей растительного происхождения позволяет оценивать влияние природы объекта и состава матрицы на регистрируемые характеристики и соответствует проблематике специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Достоверность и новизна результатов диссертации

Достоверность сравнительной части исследования обеспечивается предварительной характеристикой объектов и применением комплекса взаимодополняющих методов. Для пептидов StSys1, StPep1 и KH9 приведены данные о твердофазном синтезе, ВЭЖХ-очистке и масс-спектрометрическом подтверждении идентичности. Одновременно изучены зарегистрированные лекарственные препараты различного состава, что позволяет сопоставлять поведение индивидуальных пептидов и многокомпонентных фармацевтических систем.

Существенный объем экспериментального материала получен методом динамического лазерного светорассеяния. DLS использован для определения гидродинамического радиуса исследуемых пептидов и анализа размерных спектров плотностных неоднородностей в зависимости от концентрации и природы пептидного компонента. Показано наличие наноразмерных фракций, соответствующих пептидным частицам, а при изменении концентрации - дополнительных субмикронных и микронных фракций; для отдельных лекарственных форм выявлены различия между исходными растворами и системами после разведения или растворения лиофилизата. Результаты DLS представлены с повторными измерениями (n = 45), что позволяет оценивать устойчивость выявленных размерных характеристик.

Развитие размерного анализа в кинетической плоскости реализовано посредством 2D-DLS. Для каждого объекта сформированы серии повторных измерений и рассчитаны количественные дескрипторы; коэффициенты вариации не превышают 7 % при доверительной вероятности 0,98. Различимость объектов подтверждается совокупностью дескрипторных признаков, тепловыми картами и дендрограммами. Научная новизна работы при этом не сводится только к дескрипторной обработке 2D-DLS: принципиальное значение имеет установленная методом DLS зависимость размерного спектра плотностных неоднородностей от природы и концентрации биологически активного пептида и использование этих характеристик в задачах контроля подлинности. Дополнительным направлением является исследование радиотепловых характеристик пептидных систем. Предлагаемая автором физико-химическая интерпретация взаимодействия пептидов с водной средой представляет интерес как гипотеза, не подменяя экспериментально подтвержденные аналитические результаты.

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

Методическая последовательность работы представляется обоснованной. На первом этапе с помощью DLS определены гидродинамические размерные характеристики пептидных систем и установлены концентрационно-зависимые изменения размерных распределений. Эти данные формируют экспериментальную основу для последующего перехода к 2D-DLS, где оценивается уже не только наличие соответствующих неоднородностей, но и динамика изменения оптического сигнала во времени и пространстве. Далее автор формализует получаемую информацию в виде дескрипторных профилей и оценивает возможность их использования для контроля подлинности. Радиотепловой метода анализа рассмотрен как самостоятельное дополнение к оптическим методам.

Важно, что классический DLS в работе выполняет не вспомогательную, а содержательную функцию: именно размерные спектры позволяют проследить различия между пептидами, влияние концентрации и особенности поведения различных лекарственных форм. При этом автор учитывает ограничения интерпретации сложных водных систем и сопоставляет результаты DLS с данными других методов. Для объектов природного происхождения и многокомпонентных препаратов такой подход особенно значим, поскольку изменение матрицы способно влиять как на размерное распределение, так и на интегральный оптический отклик.

Обоснованность основных выводов поддерживается повторными измерениями, исследованием объектов различного происхождения и сложности и статистической обработкой результатов. Валидационная часть включает оценку специфичности, повторяемости, диапазона применения и устойчивости предложенных подходов. Выводы диссертации последовательно связаны с экспериментальными данными: от установления размерных характеристик и концентрационно-зависимых плотностных неоднородностей методом DLS - к кинетическим дескрипторам 2D-DLS и дополнительной оценке по радиотепловому сигналу. Такое построение работы позволяет разграничить непосредственно измеряемые характеристики и более широкие гипотетические представления о механизмах их возникновения.

Ценность для науки и практики результатов работы

Практическая ценность работы определяется прежде всего возможностью получать несколько уровней аналитической информации о пептидной системе без сложной пробоподготовки. Метод DLS позволяет быстро оценивать гидродинамические размеры и характер размерного распределения, выявляя появление дополнительных нано-, субмикронных и микронных фракций и их изменение при варьировании концентрации. 2D-DLS дополняет эти данные характеристикой кинетики оптического сигнала и формированием

многопараметрического профиля, пригодного для сопоставления с референтными образцами. Радиотепловой метода анализа расширяет возможности неразрушающего контроля и представляет интерес как дополнительная физическая характеристика исследуемой системы.

Для объектов природного происхождения и иных сложных матриц особое значение имеет оценка влияния сопутствующих компонентов на регистрируемые размерные и оптические характеристики. Полученные в диссертации данные по индивидуальным пептидным последовательностям растительного происхождения создают методический задел для дальнейшего расширения области применения разработанных подходов. Вместе с тем перенос DLS- и 2D-DLS-критериев на растительные экстракты или иные многокомпонентные объекты должен сопровождаться самостоятельной оценкой матричных эффектов, межсерийной вариабельности и робастности.

Раздел биологического тестирования дополняет физико-химическую часть исследования. Результаты, полученные в тест-системе Spirotox, корректно интерпретируются в пределах использованной биологической модели и исследованного диапазона концентраций и могут рассматриваться как дополнительная скрининговая характеристика, не заменяющая комплексную доклиническую оценку безопасности лекарственного препарата.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ. В публикациях отражены основные направления исследования, включая изучение размерных характеристик и поведения пептидных систем методом динамического лазерного светорассеяния, разработку подходов к неразрушающему контролю подлинности, исследования биологически активных олигопептидов, применение радиотеплового сигнала и работу с наноразмерными фармацевтическими объектами. Результаты представлены в рецензируемых научных изданиях, в том

числе индексируемых в международных базах, а также апробированы на профильных научных конференциях.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат соответствует основным положениям диссертации и последовательно отражает актуальность, цель и задачи исследования, объекты и методы, научную новизну, практическую значимость, положения, выносимые на защиту, основные результаты и выводы. В нем представлены результаты динамического лазерного светорассеяния, включая определение гидродинамических размерных характеристик и концентрационно-зависимых изменений размерных спектров водно-пептидных систем; результаты 2D-DLS с формированием дескрипторных профилей; данные радиотепловых измерений и сведения о метрологической оценке разработанных подходов. Изложение этих результатов согласуется с материалами диссертации.

Замечания по работе

1. Чем обусловлен выбор объектов исследования среди пептидов растительного происхождения?

2. Метод DLS показал выраженную зависимость размерных спектров пептидных систем от концентрации и состава образца. Какие критерии, по мнению автора, являются наиболее надежными для разграничения собственно пептидных частиц, ассоциатов и индуцированных плотностных неоднородностей в сложной лекарственной матрице?

3. Для многокомпонентных фармацевтических объектов характерна межсерийная вариабельность. Каким образом целесообразно формировать референтную область, одновременно учитывающую допустимые колебания размерного профиля DLS и дескрипторных характеристик 2D-DLS, чтобы отделять технологически обусловленные различия от атипичного или неподлинного образца?

4. Какие матричные факторы автор считает приоритетными при дальнейшей оценке робастности DLS и 2D-DLS: ионную силу и тип буфера, пептидные и белковые примеси, консерванты, поверхностно-активные вещества либо иные компоненты лекарственной формы?

5. На сколько сторогоспецифичны величины коэффициента радиотеплового излучения и какова точность определения подлинности пептидных лекарственных препаратов с их применением, если различные препараты (например, для DSIP и Ренобрейн СМ) дают очень близкие значения (в пределах ошибки определения)? На сколько «радиотепловой портрет» стабилен для каждого отдельного пептидного лекарственного препарата в процессе производства и хранения и воспроизводим от серии к серии? Проводилось ли сравнение одних и тех же препаратов различных производителей?

6. В разделе Spirotox отсутствие гибели *Spirostomum ambiguum* рассматривается как благоприятный результат. Как, по мнению автора, следует корректно обозначить границы такого вывода, чтобы не отождествлять результат экспресс-биотеста с полной токсикологической характеристикой лекарственного препарата? Является ли Spirotox-тест валидированным методом для оценки токсичности лекарственных препаратов?

Указанные замечания имеют уточняющий и дискуссионный характер, преимущественно касаются дальнейшей матрицеспецифической и продукт-специфической разработки методов и не снижают общей положительной оценки диссертационного исследования.

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 выявления характерных особенностей размерных распределений и физико-химических характеристик водных растворов пептидов

различного происхождения и использования установленных закономерностей для их экспресс-идентификации, имеющей важное значение для развития методов стандартизации и контроля качества лекарственных средств на основе биологически активных пептидов. 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 фармакогнозии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»,
доктор фармацевтических наук (14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия), профессор

Тринеева Ольга Валерьевна
«20» октября 2026 г.

Почтовый адрес организации: 394018, Российская Федерация, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1
Контактный телефон: +7 (473) 220-75-21
Адрес электронной почты: trineevaov@mail.ru

Подпись Тринеевой Ольги Валерьевны, доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» заверяю

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» Лопаева М.А.