ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора химических наук, профессора **Гармонова Сергея Юрьевича** 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. Разработка новых методов контроля качества пептидных лекарственных препаратов относится к числу актуальных задач фармацевтической химии, фармакогнозии, поскольку результат испытания должен характеризовать не только химическую идентичность вещества, но и состояние его водной системы, которая способна изменяться при ассоциации, разбавлении и воздействии внешних факторов. При этом для современного фармацевтического анализа особый интерес представляют методы, позволяющие получать специфичный измерительный сигнал быстро, с минимальной пробоподготовкой и с возможностью последующей формализации критериев принятия решения. В этом отношении методы светорассеяния и регистрации собственного радиотеплового излучения отвечают современным трендам развития фармацевтической науки как источники важной физико-химической информации о пептидных препаратах.

Существенной особенностью диссертации Леденева О.В. является переход от наблюдения физических характеристик к построению измерительно-аналитической процедуры. Динамическое лазерное светорассеяние (DLS) используется для количественной оценки гидродинамических размеров и размерных распределений; метод диффузного отражения (2D-DLS) - для регистрации кинетики диффузного отражения и представления сигнала в виде набора численных дескрипторов; радиотепловые измерения формируют дополнительный независимый метод анализа. Тем самым в работе решается задача не простого накопления экспериментальных данных, а получения воспроизводимых признаков, пригодных для статистического сравнения образцов и контроля по показателю «подлинность».

Представленная работа является продолжением цикла инновационных научных исследований, выполняемых в ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» на кафедре фармацевтической и токсикологической химии под руководством профессора Сыроешкина А.В. в области фармацевтического анализа дисперсных систем в микро- и нанометровом диапазоне и создания на этой основе новых способов экспрессного контроля качества лекарственных средств. Работа выполнена по Государственному контракту РУДН с ФГБУ «НИЦЭМ имени Н.Ф. Гамалеи» № 12-04/24-044 от 10.04.24 в рамках НИР № 033324-3-000, что также свидетельствует об актуальности темы диссертационной работы Леденева О.В.

Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность. В работе показано, что пептиды индуцируют образование субмикронных и гетерофазных кластеров, сопровождающееся специфическим радиотепловым излучением. Научная новизна диссертации в аналитическом аспекте определяется тем, что размерное распределение плотностных неоднородностей, регистрируемое методом DLS, рассматривается не только как характеристика дисперсного состояния, но и как информативный признак исследуемой пептидной системы. Развитием этого подхода является перевод кинетики диффузного отражения в многомерное пространство количественных дескрипторов 2D-DLS и последующее сопоставление образцов по совокупности признаков. При этом метод диффузного отражения использован как неразрушающий метод экспрессного контроля подлинности пептидных препаратов, включая возможность их анализа без вскрытия упаковки. Все это в совокупности расширяет набор физических аналитических признаков, потенциально пригодных для контроля качества пептидных лекарственных средств.

Экспериментальная часть включает исследования объектов различной природы и состава: зарегистрированных олиго- и полипептидных препаратов, индивидуальных синтетических пептидов и пептидных последовательностей растительного происхождения. Для индивидуальных соединений приведены данные твердофазного синтеза, ВЭЖХ-очистки и масс-спектрометрического подтверждения идентичности. Такая предварительная верификация исходных объектов имеет принципиальное значение, поскольку позволяет интерпретировать различия, регистрируемые физическими методами, применительно к заведомо охарактеризованным пептидным системам.

Методом DLS получены размерные спектры водных растворов пептидов, позволяющие оценивать гидродинамические характеристики и изменение соотношения регистрируемых фракций в зависимости от концентрации. В эксперименте выявлены наноразмерные, субмикронные и микронные составляющие, причем характер их распределения различается для отдельных исследованных систем. Для 2D-DLS сформированы массивы повторных измерений и рассчитаны дескрипторные показатели; использованы серии по 45 измерений при не менее чем семи независимых постановках, а коэффициенты вариации не превышают 7 % при доверительной вероятности 0,98. При радиотепловых измерениях контролировались геометрия эксперимента, температурные условия и уровень фонового сигнала. Совокупность указанных приемов обеспечивает достаточную экспериментальную основу для сделанных в работе выводов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации целесообразно оценивать через структуру предложенной аналитической процедуры. В работе последовательно определяются первичные измеряемые характеристики, выбираются способы их численного представления, оценивается вариабельность полученных показателей и формируется правило сопоставления исследуемого образца с референтными данными. Для DLS такой первичной информацией служат размерные распределения; для 2D-

DLS - кинетический оптический сигнал, преобразуемый в систему дескрипторов; для радиотеплового подхода - плотность потока собственного излучения при заданных условиях регистрации. Подобное разделение измерительного сигнала и последующей интерпретации соответствует общим принципам построения аналитических методик.

Особого внимания заслуживает статистическая обработка результатов исследования. Автор использует многократные измерения, рассчитывает показатели разброса, применяет нормализацию и многомерное сопоставление дескрипторных профилей, визуализирует структуру данных посредством тепловых карт и иерархической кластеризации. Для фармацевтического анализа важно, что решение о различимости объектов основывается не на единичном визуальном признаке, а на совокупности количественных характеристик. При этом результаты DLS и 2D-DLS несут различную по природе информацию, поэтому их раздельное рассмотрение с последующим совместным использованием представляется методически обоснованным.

Сформулированные выводы в целом соответствуют представленному экспериментальному материалу. Данные DLS подтверждают существование различий в размерных спектрах и их изменение при варьировании концентрации; результаты 2D-DLS демонстрируют воспроизводимость дескрипторных профилей и статистические различия исследованных объектов; радиотепловый блок показывает возможность получения дополнительного сигнала без разрушения образца. При этом высказанные в диссертации представления о возможных физико-химических механизмах наблюдаемых явлений корректно отделяются от собственно аналитических результатов, что повышает доказательность выводов.

Ценность для науки и практики результатов работы. Практическая значимость работы определяется возможностью реализации экспрессного физико-химического контроля, основанного на нескольких независимых типах сигнала. DLS позволяет оперативно фиксировать изменение размерного состояния пептидной системы; 2D-DLS - характеризовать ее по многопараметрическому кинетическому профилю; радиотепловой метод - получать дополнительную информацию неразрушающим способом. Такой набор методов может быть полезен на этапах сравнительной характеристики серий, экспресс-скрининга и выявления образцов, требующих последующего углубленного исследования селективными аналитическими методами.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати. По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, из них 6 статей в высокорейтинговых журналах, входящих в международные базы цитирования. Публикации охватывают результаты исследования размерных характеристик пептидных систем методом DLS, разработку неразрушающих подходов к контролю пептидных препаратов, применение радиотепловых измерений, а также исследования биоактивных олигопептидов и наноразмерных фармацевтических объектов. Представление результатов в рецензируемых изданиях и материалах

профильных научных конференций свидетельствует о достаточной апробации основных положений диссертационной работы.

Оценка содержания диссертации, соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации. Представленная на отзыв диссертация изложена на 185 страницах, содержит 59 рисунков и 9 таблиц. Библиографический список включает 244 наименования. Описание представляемого исследования включает введение, 3 главы, заключение, библиографический список и два приложения.

Автореферат в необходимой степени отражает содержание диссертации. В нем представлены цель и задачи работы, объекты исследования, методические подходы, положения, выносимые на защиту, научная новизна, практическая значимость и основные выводы. Корректно отражены результаты DLS по гидродинамическим размерам и концентрационно-зависимым изменениям размерных распределений, результаты 2D-DLS с дескрипторной обработкой кинетического сигнала, а также данные радиотепловых измерений и валидационной оценки. Существенных расхождений между авторефератом и диссертацией в представлении основных аналитических результатов не выявлено.

Возражений принципиального характера к диссертационной работе у оппонента нет. Вместе с тем необходимо высказать ряд замечаний и пожеланий к рецензируемой работе:

1. Для 2D-DLS различимость исследованных объектов показана с использованием многомерных дескрипторов и кластеризации. Какой дизайн независимой проверки автор считает наиболее корректным для подтверждения диагностической способности алгоритма: заранее выделенную тестовую выборку, перекрестную проверку или анализ новых производственных серий, не участвовавших в формировании референтной базы? Какие показатели качества классификации целесообразно при этом использовать?

2. Какие параметры автор предложил бы включить в процедуру проверки пригодности измерительной системы перед серией анализов для DLS, 2D-DLS и радиотеплового анализа? В частности, целесообразно ли использовать контрольный образец с установленными размерными характеристиками, допустимый диапазон фонового сигнала, температурные критерии, контроль геометрии измерения и контрольные карты для отслеживания долговременного дрейфа?

3. Какие свойства первичной упаковки будут определять дальнейшую возможность применения предложенного метода? Ведь желательна оценка вклада отдельных факторов в вариабельность сигнала, установление контрольных диапазонов и проверка устойчивости результатов для конкретных типов первичной упаковки и конкретных лекарственных препаратов.

4. В работе имеются незначительные опечатки в тексте, отдельные неудачные выражения. Некоторые страницы следовало бы полностью заполнить текстом (например, с. 70, 76, 95 и др.).

Указанные замечания не снижают научной и практической ценности рецензируемой 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 по разработке подходов к фармацевтическому анализу водных растворов пептидов с использованием данных динамического лазерного светорассеяния, дескрипторной обработки кинетики диффузного отражения света и регистрации собственного радиотеплового излучения, имеющих важное значение для развития экспресс-методов контроля качества лекарственных средств. 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:
профессор кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», доктор химических наук (15.00.02 Фармацевтическая химия и фармакогнозия), профессор

Гармонов Сергей Юрьевич

Почтовый адрес организации: 420015, Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 68
Контактный телефон: +7 (843) 231-89-10
Адрес электронной почты:
GarmonovSYu@corp.knrtu.ru

Подпись Гармонова С.Ю.
удостоверяю.
Начальник управления
организационного
и кадрового развития
ФГБОУ ВО «КНИТУ»
И.Ш. Харисов
» 10 2026 г.