

На правах рукописи

Леденев Олег Владимирович

**РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ВОДНЫХ
РАСТВОРОВ ПЕПТИДОВ**

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» на кафедре фармацевтической и токсикологической химии Медицинского института.

Научный руководитель:

Сыроешкин Антон Владимирович, профессор, доктор биологических наук, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии Медицинского института ФГАОУ ВО «РУДН».

Официальные оппоненты:

Каленикова Елена Игоревна, профессор, доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой фармацевтической химии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова».

Гармонов Сергей Юрьевич, профессор, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет».

Тринеева Ольга Валерьевна, профессор, доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии фармацевтического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет».

Защита диссертации состоится « » 2026 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.021 на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

Электронная версия диссертации, автореферат и объявление о защите размещены на официальном сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки РФ (<https://vak.gisnauka.ru/>) и на сайте <https://www.rudn.ru/science/dissovet>.

Автореферат разослан « » _____ 2026 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ПДС 0300.021

кандидат химических наук, доцент

Левицкая Ольга Валерьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В организме человека и животных присутствует широкий пул биологически активных пептидов, формирующийся в результате различных биохимических процессов. Одним из ключевых механизмов образования этого пула является катаболизм эндогенных белков (Serebrenik Y.V. et al., 2024). В процессе пищеварения также происходит гидролиз экзогенных полипептидов (Toldrá F. et al., 2018), что приводит к образованию новых биологически активных фрагментов. Кроме того, пептиды могут синтезироваться *de novo* (Merz M.L. et al., 2024) и поступать в организм человека в готовом виде - парентерально, интраназально или парабульбарно (Yarandi S.S. et al., 2011).

Согласно концепции, предложенной в работе (Karelin A.A. et al., 1998), совокупность эндогенных и экзогенных пептидов может рассматриваться как низовой уровень регуляции метаболизма. Примером таких соединений является дипептид карнозин, обладающий антиоксидантной активностью и участвующий в поддержании внутриклеточного pH ($pK \approx 7,0$). Биологически активные пептиды способны опосредованно влиять на азотный метаболизм, перенаправляя потоки азотсодержащих соединений по различным биохимическим путям.

Пептид-зависимые механизмы метаболической регуляции обеспечивают динамическое равновесие между катаболизмом и анаболизмом за счёт локальной модуляции энергетических параметров реакций, что способствует сохранению метаболической пластичности клетки (Boldyrev A.A. et al., 2013). Таким образом, пептиды можно рассматривать не только как структурные и сигнальные молекулы, но и как универсальные регуляторы клеточной энергетики.

Некоторые пептиды взаимодействуют со специфическими рецепторами, вызывая активацию вторичных мессенджеров, что делает их механизм действия сходным с гормональной регуляцией (Smith N.K. et al., 2019). Особенно это характерно для нейропептидов - энкефалинов и эндорфинов (Kamm K., 2024).

Биоактивные пептиды представлены как линейными, так и циклическими структурами (Li T. et al., 2023), нередко содержащими гликозилированные остатки (Angata K. et al., 2022), β -аминокислоты или D-аминокислотные компоненты (Kiss L. et al., 2017; Lander A.J. et al., 2023). Их источниками могут быть ткани животных (Gomazkov O.A., 2015), растения (Kaufmann C. & Sauter M., 2019), грибы (Landi N. et al., 2022), насекомые (Yi H.Y. et al., 2014) и бактериальная биомасса (Suchi S.A. et al., 2023).

Для фармацевтической химии особый интерес представляют пептиды, обладающие клинически доказанной эффективностью - ноотропной (включая применение в постинсультной реабилитации) (Ziganshina L.E. et al., 2023), противомикробной (Boparai J.K. & Sharma P.K., 2019) и противоопухолевой активностью (Qiao Y. & Xu B., 2023). Контроль качества таких

препаратов необходим не только для подтверждения их чистоты и подлинности, но и для предотвращения возможной контаминации прионами, способной инициировать медленные конформационные перестройки белковых структур (*Rigter A. et al., 2011*).

В настоящей работе в качестве объектов исследования были выбраны биологически активные пептиды и полипептиды животного, и растительного происхождения. Для них продемонстрировано применение новых неразрушающих методов экспресс-контроля качества - метода диффузного отражения и регистрации собственного радиотеплового излучения. Кроме того, предложено обоснование механизма действия пептидов и полипептидов при наномолярных концентрациях, что расширяет представления о закономерностях их физико-химического поведения в водных средах.

Степень разработанности темы исследования

Современные лекарственные препараты на основе пептидов на российском фармацевтическом рынке можно условно разделить на три группы: полипептидные средства, олигопептидные средства и смешанные пептидные препараты. Представители лекарственных средств на основе полипептидных молекул: Кортексин - полипептиды коры головного мозга скота (ноотропное средство); Церебролизин - комплекс пептидов, полученных из головного мозга свиньи (ноотропный препарат); Ретиналамин - полипептиды сетчатки глаз скота (препарат, улучшающий регенерацию тканей сетчатки, для системного применения в офтальмологии). Представители лекарственных средств на основе олигопептидных молекул: Семакс – гептапептид (ноотропное средство); Дельтаран – нонапептид (антигипоксантающее средство).

Действующие вещества перечисленных препаратов позволяют судить о технологии получения активного фармацевтического ингредиента (АФИ): для полипептидных средств – экстракция из органов и тканей животных, а для олигопептидных – производственный синтез. Подход к получению и контролю качества таких молекул трудозатратен и материалоемок. Предполагается экстракция с последующим дифференциальным центрифугированием и хроматографической очисткой от примесей. Контроль качества растворов пептидов требует использования масс-спектрометрии (MALDI-TOF, Orbitrap). Для искусственно синтезированных препаратов производители в большинстве случаев используют поддающийся автоматизации метод твердофазного синтеза пептидной цепи.

Все современные методы контроля качества лекарственных средств на основе пептидов начиная с высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обратной фазе с tandemной масс-спектрометрией, металл-хелатной хроматографии, изопикнического центрифугирования и заканчивая классическим электрофорезом в полиакриламидном геле в додецилсульфате натрия хорошо зарекомендовали себя с точки зрения чувствительности и селективности. Но все эти методы объединяет невозможность сохранения исследуемого образца

после проведенного анализа. Именно поэтому разработка и использование современных методик в качестве неразрушающих экспресс-методов контроля качества является актуальным направлением современной фармации. В настоящей работе использован разработанный на кафедре фармацевтической и токсикологической химии медицинского института РУДН (Syroeshkin A.V. et al., 2023) метод контроля качества дисперсных сред на основе кинетики диффузного отражения. Разновидность этого метода с использованием топологической модели обработки результатов кинетики светорассеяния адаптирована в настоящей работе для контроля качества водных растворов регуляторных пептидов по показателю «подлинность».

Цель работы:

Разработать экспресс-методы контроля качества и биологической активности пептидов для обеспечения потребностей фармацевтической промышленности.

Для достижения поставленной цели были сформулированы и решены следующие основные задачи:

1. Определить распределение по размерам плотностных неоднородностей (одиночных молекул пептида и их ассоциатов, а также гигантских кластеров воды, индуцированных пептидами) в растворе биологически активных пептидов.
2. Оптимизировать метод диффузного отражения в качестве экспресс-метода контроля качества лекарственных средств на основе пептидов.
3. Определить возможность специфического контроля подлинности лекарственных пептидов и полипептидов в первичной упаковке.
4. Охарактеризовать валидационные параметры разработанных подходов контроля качества водных растворов биологически активных пептидов с помощью метода динамического лазерного светорассеяния, метода диффузного отражения и метода радиотепловой эмиссии наночастиц.

Научная новизна работы.

Впервые в мировой практике была показана специфическая индукция плотностных неоднородностей биологическими активными пептидами. **Впервые** в мировой практике была предложена методика использования метода диффузного отражения в качестве экспресс-метода контроля качества лекарственных средств на основе пептидов по показателю «подлинность».

Теоретическая и практическая значимость работы.

В работе впервые показан возможный механизм аномального взаимодействия пептидов с водными кластерами и выдвинута гипотеза о механизме биорегуляции пептидными молекулами гомеостаза в части стабилизации внутриклеточных электромагнитных полей. Практическая значимость научной работы заключается в использовании специфических свойств биологически активных пептидов в водных растворах (формирование плотностных неоднородностей) в

контроле качества по показателю «подлинность», что является основополагающим параметром лекарственных средств для защиты населения от контрафактных и фальсифицированных препаратов. Результаты использования кинетики диффузного отражения света (2D-DLS) пептидных препаратов демонстрируют дифференцировку олиго- и полипептидов различной природы, такая методика экспресс-анализа может быть реализована на производстве в качестве поточного контроля продукции.

Практическая значимость научной работы также заключается в прямом использовании методики регистрации радиотеплового излучения от водных растворов биологически активных веществ (пептиды разной природы, вирусоподобные частицы и т.д.) на производстве вакцин в Национальном исследовательском центре эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н. Ф. Гамалеи 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.

Методология и методы исследования.

Методологическую основу диссертационного исследования составили анализ и систематизация данных отечественных и зарубежных литературных источников, посвящённых теме работы (более 200 источников). Методы анализа и синтеза пептидных препаратов соответствовали современным стандартам фармацевтической химии – для олигопептидов природного и искусственного происхождения – синтез на твёрдой фазе с использованием Fmoc технологии; очистка: высокоэффективная жидкостная хроматография; верификация: масс-спектрометрия с использованием орбитальной ионной ловушки (Orbitrap).

В диссертационной работе значительное внимание уделено следующим методам анализа гетерогенных сред: динамическое рассеяние света (DLS), кинетика диффузного отражения света (оно же двумерное динамическое светорассеяние – 2D-DLS), позволяющим регистрировать как фактическое наличие плотностных неоднородностей в растворе с записью размеров, так и кинетику формирования и распада этих гетерогенных структур в толще раствора. В результате кинетических процессов водные растворы пептидных препаратов излучали в миллиметровом диапазоне – регистрацию радиотепловой эмиссии проводили методом измерения собственного радиотеплового излучения.

Положения, выносимые на защиту:

1. Биологически активные пептиды способны индуцировать специфическим образом образование субмикронных и микронных плотностных неоднородностей в растворе.
2. Размерный спектр плотностных неоднородностей, индуцированных биологически активными пептидами, использован для контроля качества водных растворов пептидов по показателю «подлинность» методом динамического лазерного светорассеяния.

3. Процесс формирования и распада плотностных неоднородностей сопровождается радиотепловой эмиссией, что позволяет проводить измерения собственного радиотеплового излучения водных растворов пептидов в миллиметровом диапазоне.

4. Водный раствор регуляторных пептидов специфическим образом излучает в ЕНФ (Extremely High Frequencies, крайне высокие частоты - КВЧ) диапазоне электромагнитных волн.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность полученных научных результатов обеспечивается использованием современных валидированных методик (динамическое и двумерное динамическое светорассеяние, регистрация собственного радиотеплового излучения), а также стандартных методов физико-химического анализа и биологического тестирования, общепринятых в фармацевтической химии. Метрологическое обеспечение проведено с помощью экспериментов на повторяемость данных ($n=45$) и многократного воспроизведения опытов (не менее семи серий экспериментов для каждого образца). Статистическая обработка с доказательством нормального распределения данных проведена с применением программного пакета OriginPro 2021 и показала, что среднеквадратичные отклонения не превышают 7% при доверительной вероятности 0,98.

Репрезентативность выборки обеспечена включением в исследование олиго- и полипептидов различного происхождения, включая лекарственные препараты аптечного ассортимента.

Апробация результатов диссертационной работы. Основные результаты диссертационного исследования были представлены на следующих конференциях: Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, посвященной памяти академика РАМН А.П. Арзамасцев «Неделя Фармации – 2023» (Москва, Россия, 13-17 ноября 2023); VII Межфакультетская студенческая научно-практическая конференция «Life Sciences in the 21st Century: Looking into the Future» (Москва, Россия, 23-24 января 2024); Ежегодная общеуниверситетская научная конференция, посвященная 270-летию МГУ «Ломоносовские чтения - 2024» Секция: Биология (Москва, Россия, 26 марта - 4 апреля 2024) Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2024" Секция: Биохимия (Москва, Россия, 12-26 апреля 2024); 7-ая Всероссийская конференция "Физика водных растворов"(Москва, Россия, 18-20 ноября 2024); XI Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации» (Электрогорск, Московская область, Россия, 29 ноября 2024); IV Международная научно-практическая конференция «Нанохимия и современные нанотехнологии» (Москва, Россия, 25-27 июня 2025); а также неоднократно на научном семинаре кафедры фармацевтической и токсикологической химии Медицинского института РУДН

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе научных статей в журналах, индексируемых в Scopus – 2, Chemical Abstracts – 4, и статьи в сборниках конференции – 4.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) по следующим направлениям исследования (п. 1 и 3):

Пункт 1. Исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ.

Пункт 3. Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в проведении научных экспериментов и получении экспериментальных данных, обработке и интерпретации полученных результатов, апробации и внедрении результатов исследования, а также совместной с другими авторами подготовке публикаций по выполненной работе.

Структура и объём диссертации. Полный объём диссертации составляет 185 страниц, в том числе 59 рисунков и 9 таблиц. Библиографический список содержит 244 наименования. Описание представляемого исследования включает введение, 3 главы, заключение, библиографический список и два приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 посвящена обзору актуальной научной литературы по теме диссертационного исследования. Рассмотрены современные представления о пептидах как активных фармацевтических ингредиентах, их классификация, механизмы действия, способы получения и методы контроля качества.

Глава 2 содержит описание объектов и методов диссертационного исследования.

1. Объекты и методы исследования

1.1. Лекарственные препараты на основе пептидов

В работе использовали следующие объекты:

1) Лекарственный препарат (ЛП) «Семакс» рег. № ЛП-(009449)-(РГ-RU) от 26.03.25, классификация анатомо-терапевтическо-химическая (АТХ) N06BX метионил-глутамил-гистидил-фенилаланил-пролил-глицил-пролин, производителя АО "ИНПЦ "Пептоген", Россия. Лекарственная форма – капли назальные. Содержание действующего вещества (ДВ) – 0.1%.

Концентрация - 1,1 μM (1 мл).

2) ЛП «Кортексин» рег. № ЛП-№(000620)-(РГ-RU) от 09.03.2022, классификация АТХ N06BX Полипептиды коры головного мозга скота, производителя ООО "ГЕРОФАРМ", Россия. Лекарственная форма – лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения. Содержание ДВ – 5 мг в 1 флаконе. Концентрация – 0,5 μM (1 мл).

3) ЛП «Ретиналамин» рег. № ЛП-№(000519)-(РГ-RU) от 21.01.2022, классификация АТХ S01XA Полипептиды сетчатки глаз скота, производителя ООО "ГЕРОФАРМ", Россия. Лекарственная форма – лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и парабульбарного введения. Содержание ДВ – 5 мг в 1 флаконе. Концентрация – 0,5 μM (1 мл).

4) ЛП «Церебролизин» рег. № ЛП-№(009552)-(РГ-RU) от 02.04.2025, классификация АТХ N06BX комплекс пептидов из головного мозга свиньи, производителя ЭВЕР Нейро Фарма ГмбХ, Австрия. Лекарственная форма – раствор для инъекций. Содержание ДВ – 215,2 мг/мл. Концентрация – 20 нМ (1 мл).

5) ЛП «Ренобрейн СМ» рег. № ЛП-№(005724)-(РГ-RU) от 11.06.2024, классификация АТХ N06BX Полипептиды коры головного мозга скота, производителя ООО "Самсон-Мед", Россия. Лекарственная форма – лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения. Содержание ДВ – 10 мг в 1 флаконе. Концентрация – 1 μM (1 мл).

1.2. Биологически активные олигопептиды – продукты химического синтеза.

1) Пептид дельта сна ранее был активным фармацевтическим ингредиентом препарата «Дельтаран» (DSIP), CAS No.: 62568-57-4, Аминокислотная последовательность: Trp-Ala-Gly-Gly-Asp-Ala-Ser-Gly-Glu (848,81 Да) производителя ООО "Рашн Пептаид", Россия. Форма – раствор. Содержание пептида: 0,05% (5 мг). Концентрация – 6 μM (1 мл).

2) Окситоцин (Oxytocin), CAS No.: 50-56-6, Аминокислотная последовательность: Cys(1)-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys(1)-Pro-Leu-Gly-NH₂ (1007,19 Да) производителя ООО "Рашн Пептаид", Россия. Форма – раствор. Содержание пептида: 40 МЕ/мл.

3) Меланотан-2 (Melanotan-2), CAS No.: 121062-08-6, Аминокислотная последовательность: Ac-Nle-cyclo[Asp-His-D-Phe-Arg-Trp-Lys]-NH₂ (1024,179 Да) производителя ООО "Рашн Пептаид", Россия. Форма – раствор. Содержание пептида: 10 мг. Концентрация – 10 μM (1 мл).

1.3. Биологически активные пептиды растительного происхождения

1) Пептид КН9, Аминокислотная последовательность: КНКНКНКНКНКНКНКНКЛФККЛКYL. Интернализуемый пептид (СРР). Пептид был получен путем твердофазного синтеза на базе флуоренилметоксикарбонильной защитной группы (ФМОС) технологии. После проведения очистки пептида методом ВЭЖХ и лиофилизации была подтверждена чистота и идентичность пептидного препарата на уровне 95% методами ВЭЖХ и

масс-спектрометрии - расчетный моноизотопный молекулярный ион с массой 3808,33 Да. Концентрация – 1 μM (1 мл). Любезно предоставлен ГНЦ ИБХ РАН

2) Пептид StSys1, Аминокислотная последовательность: AVHSTPPSKRDPPKMQTD. Сигнальный пептид картофеля *Solanum tuberosum* (системин). Пептид получен путем твердофазного синтеза на базе FMOC технологии, очищенный методом ВЭЖХ и верифицированный с использованием масс-спектрометрии. Расчетная масса по двум изотопам равняется 1992,221 Да, а расчетный моноизотопный молекулярный ион имеет массу 1990,979 Да. Концентрация – 1 μM (1 мл). Любезно предоставлен ГНЦ ИБХ РАН;

3) Пептид StPep1, Аминокислотная последовательность: ATERRGRPPSRPKVGSGPPPQNN. Эндогенный пептидный элиситор. Пептид был получен твердофазным синтезом на базе FMOC технологии. После проведения очистки пептида методом ВЭЖХ и лиофилизации была подтверждена чистота и идентичность пептидного препарата на уровне 95% методами ВЭЖХ и масс-спектрометрии - расчетный моноизотопный молекулярный вес пептида с одним протоном – 2455,29 Да, с двумя протонами – 1228,15 Да. Концентрация – 1 μM (1 мл). Любезно предоставлен ГНЦ ИБХ РАН.

1.4. Остальные реактивы для исследований деионизированная высокоомная вода (18,2 М Ω ×см при 25 °C), прошедшая очистку на установке Milli-Q производителя Merck Millipore, США. Содержание дейтерия в воде $[D/H] = 140,0 \pm 1,0$ ppm; Буфер TNC (0,01 М Трис(гидроксиметил)аминометан; 0,14 М NaCl; 0,01 М CaCl₂; pH 7,2–7,4); Натрия хлорид Реневал буфус ампулы 0,9% 5мл №10, ATX V07AB.

2. Методы исследования

2.1. Динамическое лазерное светорассеяние (ДЛС, DLS, Dynamic Light Scattering)

Для определения гидродинамического радиуса пептидов, индукции плотностных неоднородностей, а также для получения размерных характеристик этих фракций был использован спектрометр динамического рассеяния света Zetasizer Nano ZSP (Malvern Panalytical, Великобритания). Принцип метода был описан нами ранее (*Uspenskaya E.V. et al., 2019*).

2.2. Кинетика диффузного отражения света (2D-DLS)

Метод диффузного отражения света применялся для экспресс-контроля подлинности водных растворов регуляторных пептидов. Принцип метода с применением математической модели топологических дескрипторов ранее подробно описан в работе (*Koldina A.M. et al., 2019*).

2.3. Детекция собственного радиотеплового излучения

Определение плотности потока радиотеплового излучения в КВЧ диапазоне водных растворов регуляторных пептидов проводили с помощью аппарата TES-92 (TES Electrical Electronic Corp., Taipei, Taiwan). Принцип метода описан нами ранее (*Syroeshkin A.V. et al., 2023*).

2.4. Spirotox тест

Измерения времени жизни *Spirostomum ambiguum* проводились в различных водных растворах. Концентрация пептидов составляла от 0,1 μM до 1 нМ. Эксперимент проводился с использованием оптического бинокулярного микроскопа и луночного планшета (на 5 лунок) с водной системой термостатирования. В каждую лунку было помещено 200 мкл раствора пептида, после чего раствор оставляли на 5 минут для установления температуры термостата (32°C), затем добавляли аликвоту 20 мкл с *Spirostomum ambiguum* и наблюдали за временем жизни инфузории (Hoang, Q.T.N. et al., 2024). Эксперименты повторялись 5 раз.

2.5. Метрологическое обеспечение

Метрологическое обеспечение проведено с помощью экспериментов на повторяемость данных ($n=45$) и многократного воспроизведения опытов (не менее семи серий экспериментов для каждого образца). Статистическая обработка с доказательством нормального распределения данных проведена с применением программного пакета OriginPro 2021 и показала, что среднеквадратичные отклонения в методе 2D-DLS не превышают 7% при доверительной вероятности 0,98.

Глава 3 посвящена результатам собственных исследований и их обсуждению.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Размеры биологически активных пептидов животного и растительного происхождения

Определение гидродинамического радиуса одиночных молекул пептидов, олигопептидов и полипептидов необходимо для учёта индивидуальной конформации пептидных молекул, а также для контроля образования ассоциатов в растворе. Согласно литературным данным, олигопептиды в водной среде, как правило, демонстрируют радиусы порядка 0,8–1,2 нм, тогда как более протяжённые полипептиды и белковые гидролизаты образуют ассоциаты, достигающие десятков и сотен нанометров. Проведённые измерения обладают не только прикладной ценностью для фармацевтической химии, но и вносят вклад в формирование целостных представлений о супрамолекулярной организации пептидных растворов регуляторных пептидов.

С помощью метода динамического лазерного светорассеяния были получены данные о гидродинамическом радиусе исследуемых пептидов (Рисунок 1).

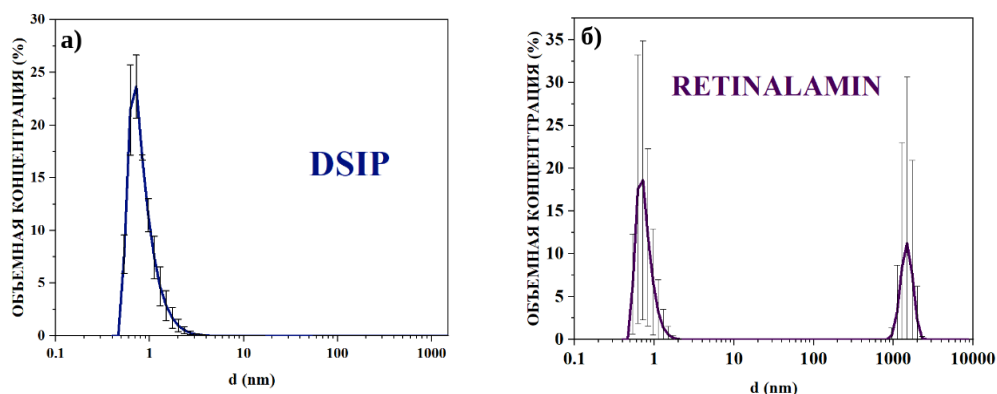


Рисунок 1. Размерные спектры по объёмной концентрации водных растворов регуляторных пептидов: а) DSIP - АФИ препарата «Дельтаран»; б) RETINALAMIN - полипептиды сетчатки глаза крупного рогатого скота (КРС). Основные пики (1–10 нм) соответствуют наноразмерным формам пептидов; появление фракций ≥ 1000 нм указывает на образование устойчивых водных кластеров. Результаты представлены в виде $\text{Mean} \pm \text{SD}$, $n = 45$. *Источник: составлено автором*

Спектры распределения по объёмной концентрации (volume distribution) водных растворов регуляторных пептидов демонстрируют гидродинамический радиус пептидных молекул (~ 1 нм), характеризующий их как наночастицы. Можно заметить, что для препаратов, реализуемых в виде раствора, комплекс вспомогательных веществ подобран так, чтобы пептидная молекула была стабилизирована и не приводила к появлению плотностных неоднородностей в исходной концентрации. Полная противоположность - лиофилизаты (например, препарат Ретиналамин, который содержит полипептиды сетчатки глаза КРС), при растворении в 0,9% NaCl на графиках динамического лазерного светорассеяния появляется дополнительный максимум около 1,5 мкм, отражающий появление плотностных неоднородностей (см. рис. 1).

3.2. Индукция плотностных неоднородностей биоактивными пептидами

В исследовании (Goncharuk V.V. et al., 2011) показано, что в водных растворах могут формироваться устойчивые плотностные неоднородности микронного диапазона, стабилизированные изотопом дейтерия. Концентрация и размер этих **D**-стабилизированных структур зависят от pH и представляют собой гигантские кластеры с размерами более 1 мкм. В водах с естественным изотопным составом (соотношение D/H ≈ 140 –150 ppm) их наличие может приводить к искажению оценки истинных размеров частиц при использовании метода DLS (Goncharuk V.V. et al., 2017).

Рядом авторов показано, что растворённые в воде газы способны формировать долгоживущие нанопузырьковые структуры — так называемые бабстоны (Bunkin N.F. et al., 2016; Yurchenko S.O. et al., 2016). Эти дисперсные структуры могут как индуцироваться пептидами, так

и, в свою очередь, сорбировать пептиды на своей поверхности.

Проведённый анализ методом динамического лазерного светорассеяния показал, что распределение плотностных неоднородностей в водных растворах биологически активных пептидов зависит как от их концентрации, так и от природы самого соединения (Таблица 1). При концентрациях от 10 нМ до 1 мМ регистрируются образования, размеры которых близки к гидродинамическому радиусу пептидных частиц, а также нанопузырьковые структуры (бабстоны). При более низких концентрациях (< 1 мМ) наблюдается формирование гигантских гетерофазных кластеров. Таким образом, характер и распределение плотностных неоднородностей в растворе являются специфичными для каждого биологически активного пептида и отражают его структурно-динамические особенности.

Таблица 1. Распределения плотностных неоднородностей по размерам в растворах пептида StSys1 по данным лазерного динамического светорассеяния.

Концентрация	ГРП¹ (0,1-10 нм)	Бабстоны² (10 нм – 1000 нм)	ГГК³ (свыше 1000 нм)
1 мМ	-	+	-
0,1 мМ	+	+	-
0,01 мМ	+	+	+
1 нМ	-	+	+

¹ - Гидродинамический радиус пептида

² - Бабстоны – нанопузырьки растворённых в воде газов, которые объединяются в частицы микронных размеров (кластеры)

³ - ГГК (гигантские гетерофазные кластеры) плотностные неоднородности с размерами до 100 м.

Принимая во внимание особенности перераспределения плотностных неоднородностей у пептида StSys1, мы исследовали размерные спектры водных кластеров в готовых лекарственных формах олигопептидов, разбавленных до нМ и мМ концентрации. Концентрированные препараты олигопептидов имеют близкие виды распределения по размеру: сигнал от пептидных наночастиц является доминирующим. При тысячекратном разбавлении формируется специфический спектр с индукцией субмикронных и микронных кластеров (Рисунок 2).

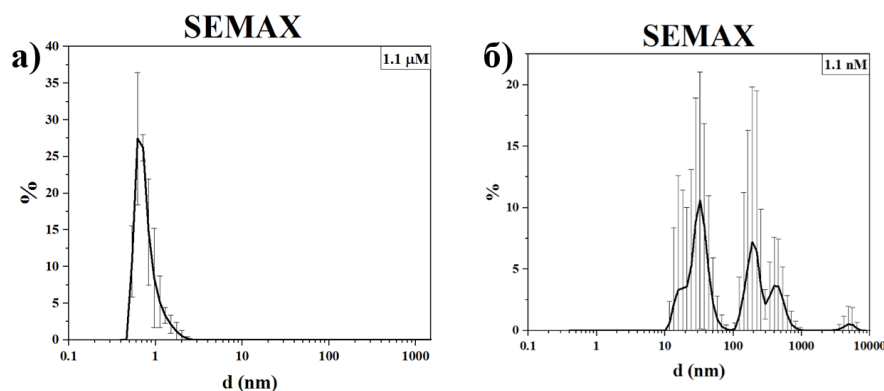


Рисунок 2. Распределение плотностных неоднородностей по объемной концентрации у препарата биоактивного олигопептида SEMAX (рус. Семакс) при концентрациях: а) 1,1 μM ; б) 1,1 nM . В разбавленном растворе наблюдается образование дополнительных фракций нанометрового и субмикронного диапазонов, что отражает тенденцию пептида к самоассоциации и формированию устойчивых структурных ансамблей при снижении концентрации ($Mean \pm SD$, $n = 45$). Источник: составлено автором

Индукция гигантских гетерофазных кластеров у многокомпонентных полипептидных препаратов выражена намного слабее (Рисунок 3). Распределение частиц по размерам может быть объяснено и другими способами, в частности формированием и распадом белковых ассоциатов.

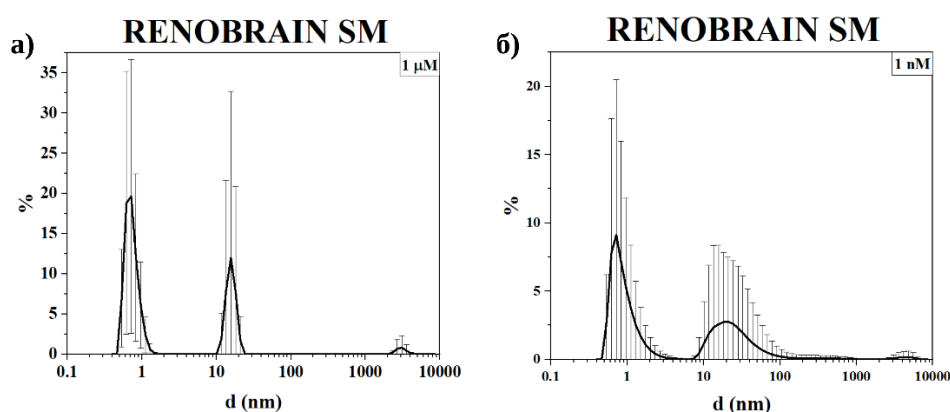


Рисунок 3. Распределение плотностных неоднородностей по объемной концентрации у препарата биоактивных полипептидов Renobrain SM при концентрациях: а) 1 μM ; б) 1 nM . При переходе к наномолярным концентрациям наблюдается «размытие» пиков распределения, отражающее наложение сигналов от пептидных частиц и индуцированных ими плотностных неоднородностей на межфазной границе ($Mean \pm SD$, $n = 45$). Источник: составлено автором

Таким образом, показано, что водные растворы регуляторных пептидов обладают сложной структурной организацией, проявляющейся в концентрационно-зависимом формировании субмикронных и микронных фракций. Ограничения классического DLS при анализе таких систем обуславливают необходимость применения двумерного анализа

диффузного светорассеяния (2D-DLS) для уточнения характера и динамики формирующихся кластерных структур.

3.3. Метод диффузного отражения в качестве экспресс-метода контроля качества лекарственных средств на основе пептидов

Для подтверждения аналитической применимости метода двумерного динамического рассеяния света (2D-DLS) в задаче идентификации пептидных препаратов был проведён комплексный анализ дескрипторных профилей водных растворов соединений различной природы – олигопептидных, полипептидных и растительных пептидов. Метод 2D-DLS позволяет одновременно регистрировать интенсивность и временные параметры автокорреляционной функции рассеяния света, что обеспечивает получение набора топологических дескрипторов, характеризующих индивидуальные особенности диффузионных процессов в системе. Для каждого дескриптора рассчитываются среднее значение (avg) и стандартное отклонение (sd), по которым определяются частные (r_i) и интегральные параметры устойчивости сигнала (R) (1):

$$r_i = \frac{avg_i}{sd_i}, R = \frac{r_1 * r_2 * r_3}{r_1 + r_2 + r_3} \quad (1)$$

Эти показатели отражают степень стабильности корреляционных характеристик и согласованность сигналов между измерениями. На рисунке 4 представлены бинарные диаграммы, иллюстрирующие соотношение между парными дескрипторами. Данный приём визуализации позволяет наглядно показать способность метода различать типы пептидов по характеру рассеяния даже при ультранизких концентрациях исследуемых веществ.

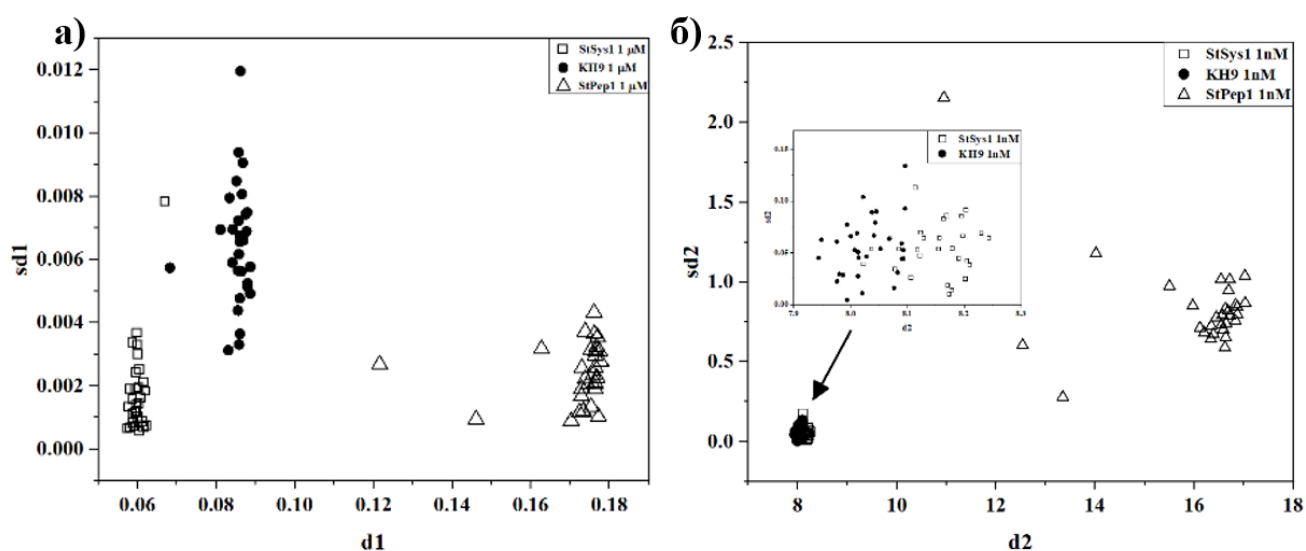


Рисунок 4. Попарная диаграмма дескрипторов растворов пептидов StPep1, StSys1, KH9: а) d1-sd1 для 1 μM концентрации; б) d2-sd2 для 1 нМ концентрации. *Источник: составлено автором*

Дендрограмма (Рисунок 5) построена по нормализованным значениям интегрального показателя R , рассчитанного по формуле: $R = \frac{r_1 * r_2 * r_3}{r_1 + r_2 + r_3}$, где $r_i = \frac{avg_i}{sd_i}$ - отношение среднего значения дескриптора к его стандартному отклонению. Для устранения масштабных различий данные были нормализованы по Z-оценке: $R_{norm} = \frac{R - \bar{R}}{SD(R)}$.

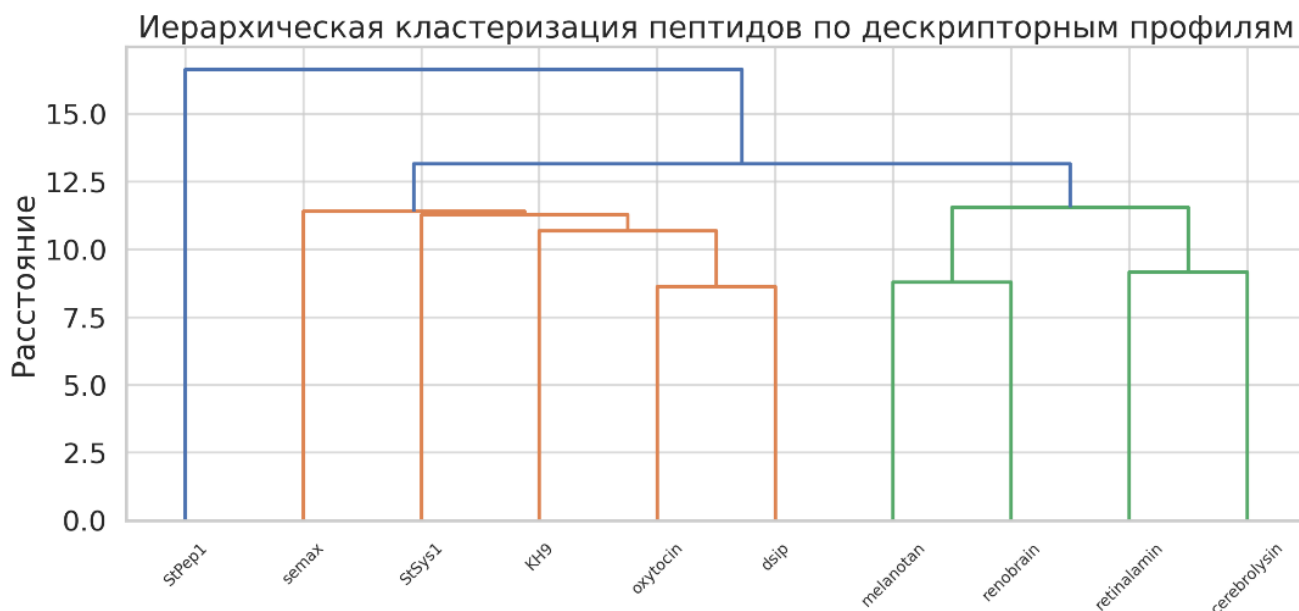


Рисунок 5. Дендрограмма иерархического кластерного анализа дескрипторных профилей пептидных препаратов, полученных методом 2D-DLS. *Источник: составлено автором*

Расстояние на дендрограмме (ось Y) вычислялось как евклидово различие между нормализованными профилями: $d(p, q) = \sqrt{\sum_{i=1}^k (R_{p,i}^{norm} - R_{q,i}^{norm})^2}$, где $R_{p,i}^{norm}$ - нормализованное значение дескриптора для препарата p , а k - количество использованных дескрипторов. При кластеризации применялся метод связи Уорда (Ward linkage), основанный на принципе минимизации различий внутри группы. Он последовательно объединяет те препараты, чьи профили наиболее похожи, а расстояние по вертикали на дендрограмме отражает, насколько сильно отличаются объединяемые кластеры. Таким образом, чем выше точка соединения ветвей, тем больше различие между соответствующими препаратами. Дендрограмма демонстрирует разделение исследованных образцов на три кластера - олигопептиды, полипептиды и растительные пептиды, что подтверждает специфичность и селективность метода 2D-DLS при определении подлинности препаратов.

Тепловая карта (Рисунок 6) построена по нормализованным значениям интегрального показателя R , рассчитанного для каждого дескриптора по формуле выше (1). Нормализация выполнялась по методу Z-преобразования: $R_{norm} = \frac{R - \bar{R}}{SD(R)}$.

Цветовая шкала отражает величину нормализованных значений: оттенки красного соответствуют более высоким значениям (высокая устойчивость сигнала); оттенки синего - более низким значениям (высокая вариабельность).

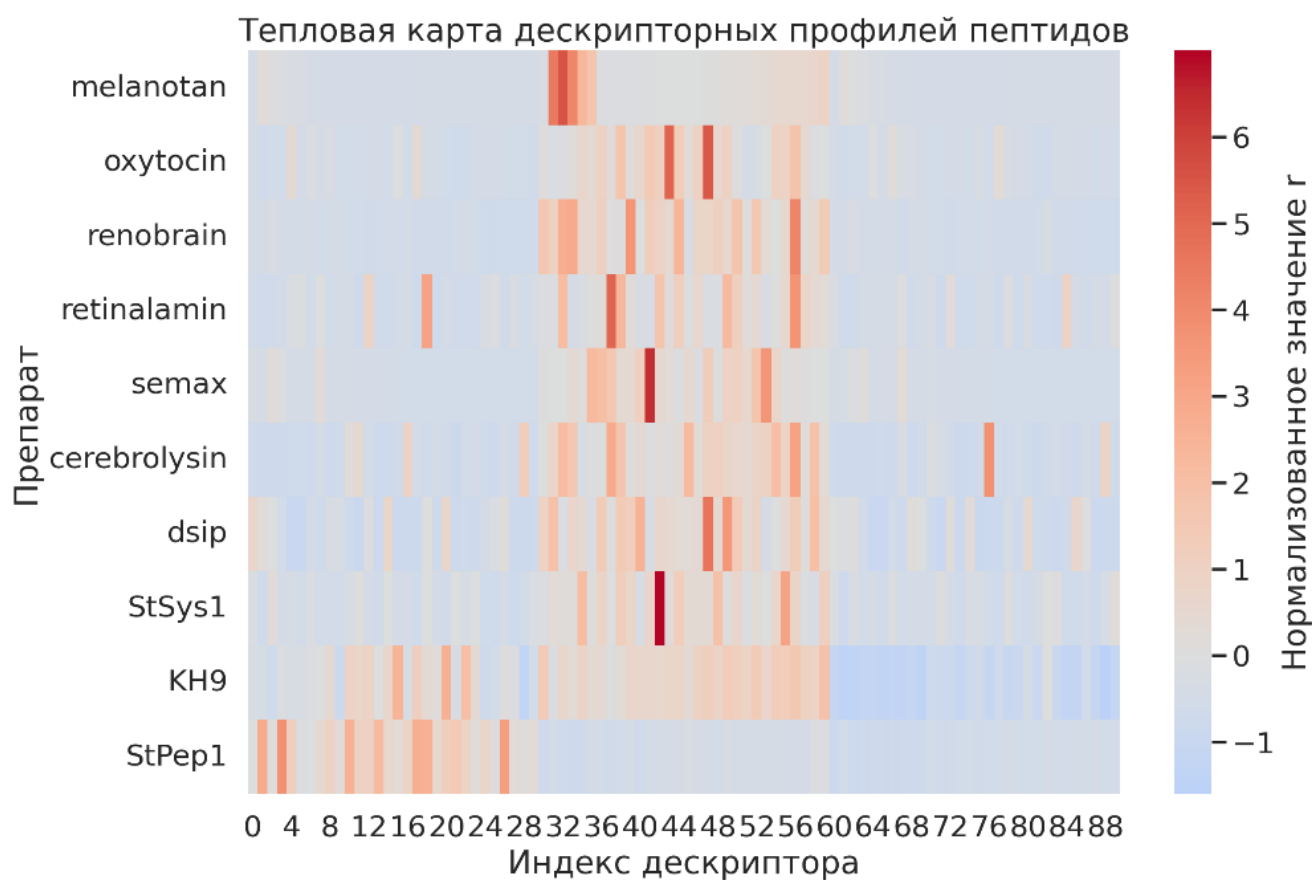


Рисунок 6. Тепловая карта нормализованных дескрипторных профилей пептидных препаратов, зарегистрированных методом 2D-DLS. *Источник: составлено автором*

Каждая строка соответствует индивидуальному препарату и отображает его дескрипторный отпечаток. Уникальные цветовые паттерны подтверждают устойчивость и воспроизводимость профилей, а также метрологическую состоятельность метода 2D-DLS при контроле показателя «подлинность».

Для количественного подтверждения метрологической состоятельности методики 2D-DLS проведена её валидация в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Все результаты валидации отражены в Таблице 2.

Расчёты выполнены по результатам семи независимых серий измерений (по $n = 45$ повторов в каждой серии), при этом выбросы исключались по критерию $\pm 2\sigma$.

Таблица 2. Валидационные параметры метода 2D-DLS для анализа подлинности водных растворов пептидных препаратов.

Валидационный параметр	Требования ОФС	Результаты 2D-DLS	Количественные показатели	Соответствие
Специфичность	Метод различает объект среди близких веществ	Уникальные профили; отсутствие перекрытий (тепловая карта, дендрограмма)	Уровень сходства кластеров < 0,2 (евклидово расстояние)	✓
Повторяемость	Результаты воспроизводимы при повторных измерениях (n = 45)	Средние значения <i>r</i> и <i>R</i> стабильны во всех сериях	SD <i>r</i> = 3,4–4,6 %; SD <i>R</i> = 5,1–6,9 % (≤ 7 %)	✓
Воспроизводимость	Согласованность при независимых сериях	Сохранение формы профиля при многократных измерениях	CV <i>r</i> = 3,4–6,9 %; CV <i>R</i> = 5,1–6,9 %	✓
Диапазон применения	Метод работоспособен в рабочих условиях	Применим для коротких, полипептидных и растительных пептидов	Среднее <i>r</i> = 1,8–2,3; Среднее <i>R</i> = 0,61–0,78	✓
Устойчивость к матрице	Метод применим в реальных условиях анализа	Профили стабильны в водных растворах без пробоподготовки	SD <i>R</i> ≤ 7 % при <i>p</i> = 0,98	✓
Метрологическая состоятельность	СКО не превышают допустимых пределов	Подтверждена устойчивость результатов при повторных измерениях	СКО (общ.) ≤ 7 % (<i>p</i> = 0,98)	✓

Комплексная обработка данных 2D-DLS продемонстрировала, что метод обеспечивает высокую специфичность, чувствительность и воспроизводимость при определении подлинности пептидных препаратов. Чёткое разделение препаратов на кластеры, наблюдаемое на дендрограмме, и наличие индивидуальных цветовых профилей на тепловой карте подтверждают стабильность сигналов и метрологическую устойчивость подхода. Проведённая валидация показала, что среднеквадратичные отклонения не превышают 7 % при доверительной вероятности 0,98, а коэффициенты вариации находятся в диапазоне 3,4–6,9 %.

Метод 2D-DLS является метрологически состоятельным, специфичным и воспроизводимым инструментом для анализа показателя «подлинность» водных растворов пептидных препаратов. Полученные результаты демонстрируют возможность его применения в системе аналитического контроля качества и идентификации пептидных субстанций различной природы. Форма сосуда не влияет на результат, поскольку регистрируется скорость мерцания гигантских кластеров (Goncharuk V.V. et al., 2017; Syroeshkin A.V. et al., 2024). Это позволяет применять метод 2D-DLS к любым прозрачным сосудам. В случае, если конструкция первичной упаковки (цвет, мутность, наклейки) не позволяет зондировать световым лучом внутреннее содержимое, то можно применить иной подход, основанный на эмиссии радиотеплового излучения биологически активными наночастицами (Petrov G.V. et al., 2024), к которым относятся все изучаемые в настоящей работе препараты.

3.4. Возможность специфического контроля подлинности лекарственных пептидов и полипептида в непрозрачной первичной упаковке

Спектральные исследования характеристик испускаемого излучения от биологически активных препаратов, с помощью метода фильтров и регистратора TES-92, показали, что частота излучения лежит в диапазоне ЕНФ, примерно от 80 до 120 ГГц. Как было показано (*Petrov G.V. et al., 2024; Syroeshkin A.V. et al., 2023*), биологически активные наночастицы спонтанно могут излучать в миллиметровом диапазоне, причем усиление этого излучения можно достичь, как при нагреве препаратов, так и при их облучении в видимом диапазоне. Действительно, все исследуемые нами препараты способны к радиотепловому излучению (Таблица 3), а плотность потока и коэффициент стимуляции плотности потока радиоизлучения вместе образуют пару чисел, однозначно характеризующих вид препарата.

Таблица 3. Радиотепловое излучение пептидных лекарственных препаратов без вскрытия первичной упаковки. Фон не превышал 1 мкВт/м².

НАИМЕНОВАНИЕ		$^{27^{\circ}\text{C}}\text{F}$ (мкВт/м ²) $\pm$ SD	$K_t = (^{34^{\circ}\text{C}}\text{F}/^{27^{\circ}\text{C}}\text{F})$
олигопептиды	DSIP	34 $\pm$ 2	1,30
	Семакс	17 $\pm$ 1	1,80
смеси пептидов и полипептидов	Церебролизин	17 $\pm$ 2	1,27
	Ренобрейн СМ	30 $\pm$ 3	1,11
	Ретиналамин	52 $\pm$ 5	0,80
	Кортексин	34 $\pm$ 3	0,90

При необходимости можно решать и обратную задачу: определить $^{27^{\circ}\text{C}}\text{F}$ и K_t для подтверждения подлинности препарата. Особенностью этой постановки является то, что технически она выполняется без вскрытия первичной упаковки, поскольку радиоизлучение от этих объектов в значительной степени преодолевает стекло или пластик при толщине менее 1 мм.

3.5. Возможный механизм аномального взаимодействия пептидов с водными кластерами

Мы предположили, что способность пептидов к индукции водных кластеров (как затравок своеобразных водных коллоидов) связана с их способностью к спонтанному радиоизлучению. Действительно, спонтанное излучение от растворов пептидов, превышающее тепловой фон, может быть рассмотрено как аналог плазменных нанообразований (*Kim D.J. et al., 2018*). Причем радиоизлучение этих наноантенн будет выступать известным синхронизатором ван-дер-ваальсовых взаимодействий (*Syroeshkin A.V. et al., 2023*) индуцированных диполей на коллоидных частицах (олигопептидах, полипептидах, кластерах воды). При наличии такого радиоизлучателя имеется возможность объяснить эффект дальнего действия - индукцию нанообъектом упорядоченного хирального кластера воды с размерами более 1 мкм (*Syroeshkin*

A.V. et al., 2024). Данную модель можно описать следующим кинетическим уравнением (Рисунок 7):

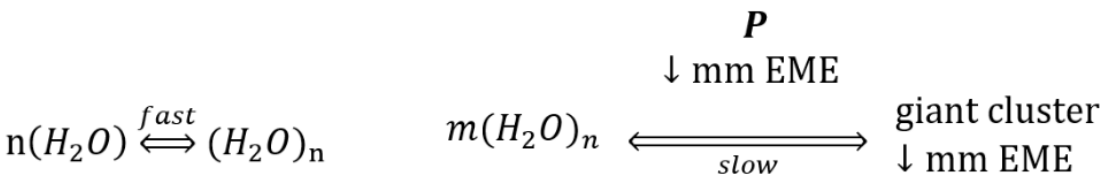


Рисунок 7. Кинетическое уравнение формирования плотностных неоднородностей. *Источник: составлено автором*

Хорошо известно, что молекулы воды спонтанно складываются в короткоживущие (время релаксации менее 1 нс) субнанометровые кластеры (*Meng X. et al., 2015*). Пептид (на схеме – P) за счет плазмоподобной генерации миллиметрового излучения (mm EME) способствует упорядочиванию нанокластеров в гигантские гетерофазные кластеры, излучающие такой же спектр, как исходный пептид.

Эта модель предполагает, что водные **D**-стабилизированные гигантские кластеры будут своеобразными усилителями излучения от пептида или полипептида. Действительно, при тысячекратном разведении (Таблица 4) плотность потока, линейно зависящая от концентрации излучателей – наночастиц в неводных средах (*Syroeshkin A.V. et al., 2023*) падает в 2–3 раза, а для растительных пептидов значительно возрастает. Это явление хорошо объясняет, почему для биоактивных пептидов применяют столь низкие терапевтические дозы (также и в фитопатологии (*Skripnikov A.Y., 2023*)). Если расчетные концентрации в фармакокинетике пептидов в плазме крови достигнут хотя бы 1 нМ, то константа диссоциации комплекса пептида с потенциальным рецептором должна быть 100 пМ. Таковую аффинность к олигопептидам невозможно объяснить, поскольку предполагает квазинеобратимое связывание.

Таблица 4. Изменение плотности потока радиотеплового излучения водных растворов пептидных препаратов при разбавлении. Аликвота – 100 мкл. Фон не превышал 1 мкВт/м².

Наименование		33°C F (мкВт/м ²) ±SD	
		Исходный раствор	Тысячекратное разведение
Олигопептиды: животные и растительные	DSIP	37 ±2	19 ±2 (52%**)
	StPep1*	8 ±1	15 ±1 (187%)
Смеси пептидов и полипептидов	RENOBRAIN SM	37 ±2	14 ±1 (38%)

* исходная концентрация – 1 μM

** в процентах к концентрированному раствору

С учетом «радиоусиления» сигнала от пептидов на кластерах воды возможна своеобразная мимикрия, когда дисперсионно имитируются воздействие на рецептор в части организации мерцающих диполей и конформационных превращений.

3.6. Определение токсичности водных растворов регуляторных пептидов на модели *Spirotox*.

В эксперименте по оценке токсичности нами были проверены пептиды, отвечающие за иммунный ответ растений, а также другие биологические активные пептиды. Таким образом таблица 5 демонстрирует результаты реакции модельного организма - *Spirostomum ambiguum* на введение в раствор биологически активных пептидов различного происхождения. Микроорганизм *Spirostomum ambiguum* не гибнет в водных растворах регуляторных пептидов больше, чем 30 минут, расчёт энергии активации для пересчёта в LD₅₀ при пероральном приёме у грызунов (крысы) становится нецелесообразным, полученные данные свидетельствуют о безопасности исследуемых препаратов.

Таблица 5. Продолжительность жизни *Spirostomum ambiguum* в водных растворах.

Название образцов	t _ж , мин
H ₂ O* (D/H = 140 ppm)	≥30
Deuterium depleted water (вода, обедненная по дейтерию) (D/H = 5 ppm)	3±0,3
H ₂ O (D/H = 300 ppm)	2±0,1
Водные растворы пептидов**	≥30

*-все препараты бидистиллированной воды отличаются только концентрацией дейтерия

**-относится ко всем исследованным пептидам в интервале концентрации 1 нМ – 0,1 мМ

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование показало, что регуляторные пептиды в водных растворах способны инициировать образование субмикронных и гигантских гетерофазных структур. Эти процессы отражают их способность к самоорганизации и во многом определяют особенности биологической активности. Установлено, что растворы пептидов представляют собой самоорганизующиеся супранадмолекулярные системы, способные к радиотепловому излучению в миллиметровом диапазоне, и характеризуются переменной, динамически изменяющейся внутренней структурой. Полученные результаты имеют фундаментальное значение и формируют новое представление в фармацевтической химии: лекарственное средство следует рассматривать не только как индивидуальное химическое соединение, но и как инициатор структурной

самоорганизации водной среды организма на супрамолекулярном уровне. Практическая значимость работы заключается в разработке неразрушающих экспресс-методов контроля подлинности и качества пептидных препаратов, что открывает возможности для совершенствования технологий стандартизации и создания лекарственных средств нового поколения.

ВЫВОДЫ

1. Разработана экспресс-методика на основе кинетики диффузного рассеяния света для контроля качества биологически активных пептидов, обеспечивающая потребности фармацевтической промышленности.
2. Установлено, что пептиды животного и растительного происхождения, являясь наночастицами, способны специфически индуцировать образование устойчивых водных супрамолекулярных ассоциатов - субмикронных структур (бастонов), гигантских гетерофазных кластеров.
3. Метод 2D-DLS апробирован и адаптирован для целей фармацевтического анализа водных растворов пептидов: показана возможность дифференциации олиго- и полипептидов различного происхождения в широком диапазоне концентраций (от μM до nM); проведена валидация метода и его применимость для экспресс-контроля подлинности.
4. Доказана принципиальная возможность идентификации пептидных препаратов по параметрам радиотеплового излучения без вскрытия упаковки: показано, что комбинация коэффициента радиотеплового излучения и параметров его стимуляции формирует уникальный идентификационный профиль каждого препарата.
5. Подтверждена метрологическая состоятельность разработанных подходов: проведены многосерийные эксперименты (не менее 7 серий по 45 повторов), установлены статистические характеристики, показана высокая воспроизводимость результатов (среднеквадратичные отклонения $\leq 7\%$ при доверительной вероятности 0,98).

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в журналах, индексируемых

в международных базах Scopus и Chemical Abstracts

1. **Ledenev O.V.**, Petrov G.V., Skripnikov A.Y., Syroeshkin A.V. Development of a method for quality control of peptide drugs without opening the primary packaging // *International Journal of Applied Pharmaceutics*. – 2025. – Vol. 17, № 5. – P. 1–6. DOI: 10.22159/ijap.2025v17i5.54386.

2. **Ledenev O.V.**, Levitskaya O.V., Syroeshkin A.V. Drugs based on bioactive oligopeptides // *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. – 2025. – Vol. 15, № 6. – P. 244–252. DOI: 10.22270/jddt.v15i6.7194.
3. **Ledenev O.V.**, Filatov I.E., Eliseeva O.V., Latyshev O.E., Dyachenko I.A., Slashcheva G.A., Shaykhutdinova E.R., Kazakova E.N., Sadovnikova E.S., Patsap O.I., Lebedeva V.V., Murashev A.N., Grebennikova T.V. Toxicity evaluation of a VLP-based vaccine against human rotavirus infection following a single administration in rats: serum biochemistry and histopathological examination of organs and injection site // *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. – 2025. – Vol. 15, № 8. – P. 69–79. DOI: 10.22270/jddt.v15i8.7314.
4. Nazarov A.A., **Ledenev O.V.**, Petrov G.V., Levitskaya O.V., Syroeshkin A.V. New method of quality and quantity control of the insulin glulisine pharmaceuticals based on intrinsic radiothermal emission // *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. – 2025. – Vol. 15, № 6. – P. 116–125. DOI: 10.22270/jddt.v15i6.7189.
5. Petrov G.V., Koldina A.M., **Ledenev O.V.**, Tumasov V.N., Nazarov A.A., Syroeshkin A.V. Nanoparticles and nanomaterials: a review from the standpoint of pharmacy and medicine // *Pharmaceutics*. – 2025. – Vol. 17. – Art. 655. – 25 p. DOI: 10.3390/pharmaceutics17050655.
6. Levitskaya O.V., Petrov G.V., **Ledenev O.V.**, Yakunin D.Y., Grebennikova T.V. Non-destructive remote determination of total native protein concentration in virus-like particle vaccine preparations // *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. – 2025. – Vol. 15, № 8. – P. 95–100. DOI: 10.22270/jddt.v15i8.7320.

Статьи в сборниках конференций

7. **Леденев О.В.**, Скрипников А.Ю., Сыроешкин А.В. Специфическая индукция плотностных неоднородностей водными растворами лекарственных пептидных средств // *Физика водных растворов: сборник тезисов VII Всероссийской конференции (Москва, 18–20 ноября 2024 г.)*. – М.: ООО «МЕКОЛ», 2024. – С. 64–65. DOI: 10.24412/cl-35040-2024-64-65. EDN: EPTJAJ.
8. **Леденев О.В.**, Скрипников А.Ю., Сыроешкин А.В. Экспресс-контроль качества иммунобиологических ЛС и ЛС на основе пептидов без вскрытия первичной упаковки // *Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: материалы XI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Электрогорск, Московская обл., 29 ноября 2024 г.)*. – Электрогорск: АО «ЭКОлаб», 2025. – С. 104–105. EDN: BFRMNY.
9. **Леденев О.В.**, Петров Г.В., Колдина А.М., Назаров А.А., Сыроешкин А.В. Наночастицы, модифицированные пептидами: синтез, применение, контроль качества //

Нанохимия и современные нанотехнологии: материалы IV Международной научно-практической конференции (Москва, 25–27 июня 2025 г.). – М.: Изд-во МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2025. – С. 152–155. EDN: DAPWSB.

10. Назаров А.А., Петров Г.В., **Леденев О.В.**, Колдина А.М., Сыроешкин А.В. Контроль качества наноразмерного препарата инсулина на основе собственного радиотеплового излучения // Нанохимия и современные нанотехнологии: материалы IV Международной научно-практической конференции (Москва, 25–27 июня 2025 г.). – М.: Изд-во МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2025. – С. 159–162. EDN: LQZEIY.

Леденев Олег Владимирович
(Российская Федерация)

РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ПЕПТИДОВ

Диссертационная работа посвящена комплексному исследованию физико-химических свойств и биологической активности водных растворов регуляторных пептидов. Впервые показано, что пептиды индуцируют образование субмикронных и гетерофазных кластеров, сопровождающееся специфическим радиотепловым излучением. Метод диффузного отражения (2D-DLS) адаптирован как неразрушающий экспресс-метод контроля подлинности пептидных препаратов, включая возможность анализа без вскрытия упаковки. Предложена новая модель взаимодействия пептидов с водными кластерами, объясняющая их эффективность при наномолярных концентрациях. Практическая значимость заключается в создании инновационных методик фармацевтического анализа, обеспечивающих надёжность контроля качества и безопасность применения пептидных лекарственных средств.

Ledenev Oleg Vladimirovich
(Russian Federation)

DEVELOPMENT OF EXPRESS METHODS FOR QUALITY CONTROL OF AQUEOUS SOLUTIONS OF PEPTIDES

The dissertation work is a comprehensive study on the physicochemical properties and biological activities of aqueous solutions containing regulatory peptides. For the first time, it has been demonstrated that these peptides induce the formation of submicron-sized and heterogeneous clusters, accompanied by specific radiothermal emission.

A novel approach using the diffuse reflection kinetics (2D-DLS) technique has been developed as a non-destructive and rapid method for verifying the identity of peptide preparations. This technique can be applied without the need to open the packaging, providing a valuable tool for quality control.

Additionally, a new model for the interaction between peptides and water clusters has been proposed, which explains their effectiveness at nanomolar concentrations. This model contributes to our understanding of the mechanisms underlying the biological effects of peptides.

The practical significance of this research lies in the development of innovative analytical methods for pharmaceutical testing, which can enhance the reliability of quality assurance and safety measures for peptide-based medications.