

**Галкина Дарья Александровна**

**КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВАКЦИН И ГАЛЕНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ  
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМИ И ХЕМОМЕТРИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

**АВТОРЕФЕРАТ**

**на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук**

**Москва – 2024**

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

**Научный руководитель:**

**Плетенёва Татьяна Вадимовна**, профессор, доктор химических наук, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии Медицинского института РУДН

**Официальные оппоненты:**

**Гармонов Сергей Юрьевич**, профессор, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет».

**Абизов Евгений Анатольевич**, доцент, доктор фармацевтических наук, доцент кафедры экспертизы в допинг- и наркоконтроле ФГБОУ ВО РХТУ им. Д.И. Менделеева

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г. в \_\_ часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.021 по фармацевтическим наукам на базе РУДН по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.б.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке РУДН по адресу: 117198, ул. Миклухо-Маклая, д.б.

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

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

**Ученый секретарь**  
диссертационного совета ПДС 0300.021  
кандидат химических наук, доцент

**Левицкая Ольга Валерьевна**

**Актуальность.** Несмотря на длительную историю вакцинации от Л. Пастера до М.П. Чумакова, лишь недавний всплеск заболеваний коронавирусом (*Canoui E. et al., 2019*) стимулировал разработку новых типов вакцин. На мировом фармацевтическом рынке набирают популярность вакцины нового поколения на основе самособирающихся вирусоподобных частиц (VLP – *Virus Like Particals*), которые имитирует морфологические особенности (размер, форма, природа белков) настоящих вирусов. Российскими учёными разработаны вакцины на основе VLP распространенных штаммов вируса SARS-CoV-2 (*Гребенникова Т.В. и др, Роспатент № 2021139796, 2021*), а также ротавируса А (*Черепушкин С.А. и др., 2021*). Достоинством этой группы вакцин является отсутствие в их составе фрагмента матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК), что обеспечивает невозможность репликации вируса в организме человека (*Prates-Syed W.A. et al., 2021*). По результатам I и II фазы клинических испытаний вакцин на основе VLP они являются безопасными, что подтверждается отсутствием нежелательных побочных реакций (*Grebennikova T.V. et al., 2023*). Разработка VLP-вакцин потребовала использования дополнительных методик контроля качества, в частности проведения испытаний дисперсности. До настоящего времени, несмотря на активное внедрение в фармацевтическую практику метода динамического светорассеяния (*DLS – Dinamical Light Scattering*), контроль дисперсности VLP осуществляли преимущественно методом трансмиссионной электронной микроскопии (*De Sá Magalhães et al., 2022*).

Наночастицы, присутствующие в лекарственных средствах (ЛС), попадая в организм, могут быть источником механического стимулирования биологических сигналов, известного как механотрансдукция (*Abdel Fattah A.R. et al., 2020; Weaver V. M., 2017*). Например, их присутствие в отдельных компартментах организма может приводить к высвобождению химических транмиттеров и возникновению нейронных импульсов (*Elblová P. et al., 2024; Metz F.K. et al., 2019*). Как оказалось, биомеханические воздействия не менее важны, чем традиционные биохимические (рН, окислительно-восстановительные потенциалы, кинетический изотопный эффект, хиральные превращения, катализ). Процессы биомеханической стимуляции частицами дисперсной фазы лекарств исследуются всё с большей активностью, что подтверждается формированием новых направлений – наномедицины и нанофармации (*Cai P. et al., 2018; Zhang Y. et al 2016*). Особое значение приобретает изучение физико-химических механизмов возможных механотрансдукционных процессов, сопровождающееся контролем дисперсности ЛС (*Syroeshkin A. V. et al., 2024; Petrov G. V. et al., 2024*).

Для профилактики и лечения вирусных инфекций хорошо зарекомендовали себя ЛС на основе растительных компонентов — настойки календулы и эвкалипта (*Mieres-Castro D. et al., 2021*), в которых присутствуют частицы дисперсной фазы. Контроль качества настоек затруднен из-за их многокомпонентного состава (*Shahane K. et al., 2021; Baser K.H.C. et al., 2023*). В

настоящее время нормативные требования к настойкам ограничены определением массы сухого остатка, содержания этанола, а также примесей метанола и тяжелых металлов («Настойки», ОФС.1.4.1.0019 ГФ РФ XV, «Liquid extraction preparations», Ph. Eur.11.5). Расширение спектра показателей качества лекарственных растительных препаратов (ЛРП) должно быть направлено на разработку методик определения подлинности и дисперсности.

Дальнейшее совершенствование контроля качества вакцин и ЛРП как дисперсных систем методом DLS позволяет определять размер частиц в нанодиапазоне и характеризовать их стабильность по величине электрокинетического потенциала. Вариации дисперсности исходного лекарственного растительного сырья (ЛРС) открывают возможности определения подлинности путем сочетания спектральных характеристик с хемометрическими подходами, включая *Метод Главных Компонент/ Principal Component Analysis (МГК/ PCA)* и методы *Количественной Корреляции «Структура – Активность»/ Quantitative Structure–Activity Relationship (ККСА/ QSAR)*. Контроль дисперсности галеновых препаратов позволяет усовершенствовать диаграмму корреляционных зависимостей между кажущейся энергией активации лиганд-рецепторных взаимодействий ( $^{obs}E_a$ , Spirotox-тест) и токсичностью активных фармацевтических ингредиентов АФИ ( $LD_{50}$ , per os).

**Степень разработанности темы исследования.** Вакцины нового поколения на основе VLP требуют совершенствования подходов к контролю их качества. В существующих нормативных документах («Вакцины анатоксины», ОФС.1.7.1.0004.15 ГФ РФ XV) отсутствует показатель «размер частиц». Разработанная методика определения дисперсности VLP позволила контролировать многостадийный процесс их выделения и очистки. Спектры динамического светорассеяния растворов VLP-вакцин с адьювантом характеризуют оптимальный размерный диапазон частиц в готовой лекарственной форме (ГЛФ). Стабильность готовых VLP-вакцин с адьювантом исследовали в течение 12 месяцев, что позволило установить срок их годности. Полученные результаты явились основой для формирования Стандарта Предприятия «Метод контроля стабильности VLP-вакцин» (СТП 01897357-002-2023, Контракт № 8а-04/23–051 от 02.05.2023 г.).

Отсутствие стандартных образцов (СО), необходимых для определения подлинности ЛРП, явилось основанием для разработки комбинированных аналитических подходов. Исследования коллектива кафедры фармацевтической и токсикологической химии Медицинского института РУДН в области идентификации ЛРС и галеновых препаратов с применением хемометрической обработки спектральных данных в широком интервале длин волн (Pleteneva T.V., Ogotoeva, D. D. et al., 2024) позволили расширить круг фармакогностических объектов, включив в рассмотрение ЛРП антибактериального и противовоспалительного действия. ККСА-прогнозирование субстанций с использованием разработанных на кафедре

оригинальных компьютерных программ (Попов П.И., Роспатент № 2003612305, 2003; Попов П.И., Роспатент № 2005612770, 2005) позволило провести сравнение биологической активности природных компонентов ЛРП с синтетическими ЛС аналогичного терапевтического действия и оценить перспективность их применения.

**Объекты исследования.** *Объекты диссертационного исследования:* иммунобиологические препараты – экспериментальные образцы, содержащие вирусоподобные частицы SARS-CoV-2 и ротавируса А; ГЛФ вакцин нового поколения на основе VLP без адьюванта и с адьювантом, разработанные ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ; ЛРП: настойки и ЛРС противовоспалительного и антибактериального действия, реализуемые через аптечную сеть, а также лабораторные настойки, изготовленные из диспергированного и гомогенизированного ЛРС.

**Предмет исследования.** *Предмет диссертационного исследования* – разработка методик контроля качества VLP-вакцин и ЛРП путём оценки их дисперсности, ККСА-прогнозирования липофильности отдельных компонентов галеновых препаратов, хемометрической обработки результатов их спектрального анализа и прогнозирования комбинированной активности на основе аррениусовской кинетики.

**Цель исследования:** совершенствовать подходы к контролю качества некоторых противовирусных и антибактериальных лекарственных средств на основе комплекса физико-химических, хемометрических и биологических методов.

**Задачи исследования:**

1. Исследовать стабильность VLP-вакцин нового поколения методом динамического светорассеяния (DLS) для последующей стандартизации.
2. Исследовать возможности физико-химических методов (поляриметрия, кондуктометрия, потенциометрия, ГХ-МС) в определении подлинности и оценке качества настоек календулы и эвкалипта.
3. Разработать методики определения подлинности ЛРП без использования СО путем хемометрической обработки (МГК) спектральных результатов (ИКФС НПВО, РФА, УФ).
4. Разработать ККСА-диаграммы для сравнительной характеристики липофильности компонентов растений и синтетических ЛС, обладающих противовоспалительным действием.
5. Разработать методику оценки комбинированной биологической активности галеновых препаратов выбранного фармакологического класса на основе аррениусовской кинетики (*Spirotox-тест*) для оптимизации токсикометрической оценки.

**Научная новизна.** Впервые разработана методика контроля стабильности вакцин нового поколения на основе VLP, включенная в Стандарт предприятия (СТП) 01897357-002-2023 «Метод контроля стабильности VLP-вакцин». Впервые галеновые препараты

противовоспалительного и антибактериального действия исследованы физико-химическими методами (поляриметрии, кондуктометрии, потенциометрии, газовой хроматографии с селективным масс-детектированием - ГХ-МС), что открывает новые возможности в определении их подлинности и оценки качества. В связи с отсутствием СО **впервые** разработаны методики определения подлинности ЛРП разных ботанических родов (календулы цветки, эвкалипта листья, кора дуба, чабреца трава) на основе тандемного подхода: спектрометрия в сочетании с МГК. **Впервые** методом ККСА доказана более высокая липофильность каннабиноидов по сравнению с группой нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), что объясняет эффективность и безопасность зарубежных ЛС на основе каннабиса в качестве обезболивающих и противовоспалительных препаратов. **Впервые** для оценки биологической активности определены значения кажущихся энергий активации ( $^{obs}E_a$ ) лиганд-рецепторных взаимодействий настоек календулы и эвкалипта, позволившие оптимизировать токсикометрические измерения.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Для контроля качества вакцин нового поколения на основе вирусоподобных частиц разработана методика, позволяющая охарактеризовать распределение размера частиц по интенсивности и объёму рассеяния света в зависимости от их размера в нанометровом диапазоне (метод DLS). Для оценки стабильности вакцин осуществлены фармакокинетические исследования, основанные на измерении указанных параметров в течение 12 месяцев. Стабильность вакцин нового поколения охарактеризована величиной электрокинетического потенциала ( $\zeta$ -потенциала). Проведенные исследования обобщены и представлены в виде «Стандарта предприятия» (см. Приложение А).

Разработан новый подход для определения подлинности ЛРП антибактериального и противовоспалительного действия, сочетающий спектрометрические исследования (ИКФС НПВО, РФА, УФ) и хемометрическую обработку спектральных результатов. Методика позволяет определять подлинность ЛРП в отсутствие СО и в перспективе может быть использована для разработки общей фармакопейной статьи (ОФС) «Определение подлинности ботанического рода лекарственных растительных препаратов». Осуществлён комплексный подход к экспресс-оценке качества галеновых препаратов, сочетающий измерения их оптической активности (метод поляриметрии) и, электрохимических показателей (рН, удельная электропроводность). Проведенные скрининговые исследования ГХ-МС позволили обнаружить в настойках календулы и эвкалипта специфические соединения – биомаркеры, которые могут быть рекомендованы для дальнейшего внедрения в фармацевтический анализ в качестве СО.

**Методология и методы исследования.** Диссертационные исследования базировались на общенаучной методологии – сравнение, сопоставление, анализ. Обобщены результаты исследований зарубежных и отечественных научных изданий (более 260 источников), а также патентов и нормативной документации, в том числе государственной фармакопеи (ГФ РФ) и

зарубежных фармакопей. Исследования выполнены с использованием современных физико-химических методов анализа: динамического светорассеяния (DLS), поляриметрии, потенциометрии, кондуктометрии, ИК-спектрометрии, РФА, и УФ-спектрофотометрии. Комбинированную биологическую активность компонентов настоек определяли методом *Spirotox-тест* на основе аррениусовской кинетики. Статистическую и хемометрическую обработку электронных и колебательных спектров, ККСА-моделирование и графическое представление результатов осуществляли в программах OriginPro 2021 (OriginLab Corporation, США) с использованием оригинальных программ, разработанных на кафедре фармацевтической и токсикологической химии Медицинского института РУДН.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Результаты применения метода динамического светорассеяния (DLS) для контроля качества вакцин нового поколения на основе VLP.
2. Результаты применения физико-химических методов (поляриметрии, кондуктометрии, потенциометрии, ГХ-МС), необходимых для контроля качества и стандартизации галеновых препаратов выбранного фармакологического класса.
3. Результаты сочетания спектральных методов анализа и МГК для идентификации ботанического рода без использования СО.
4. Результаты ККСА-моделирования компонентов ЛРС и компонентов настоек противовоспалительного и антибактериального действия в сравнении их липофильности с ЛС класса НПВС.
5. Результаты прогнозирования биологической активности настоек календулы и эвкалипта, позволяющие оптимизировать получение сравнительных токсикометрических данных.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) по следующим областям исследования:

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.*
3. Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.
6. Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов

выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе.

**Степень достоверности полученных результатов.** Работа выполнена на высокотехнологичном оборудовании с использованием оригинального программного обеспечения (ПО), что гарантирует высокую воспроизводимость и достоверность полученных результатов. Разработанные методики определения размера частиц VLP-вакцин и подлинности ЛРП статистически обработаны с помощью пакета «Origin Pro» (OriginLab Corporation, США) и валидированы в соответствии с ГФ РФ («Валидация аналитических методик», ОФС.1.1.0012, ГФ РФ XV).

**Апробация результатов исследования диссертационной работы** проведена на заседании кафедры фармацевтической и токсикологической химии Медицинского института РУДН (протокол № 0300–35–04/13от 30.09.2024).

Основные результаты диссертационной работы представлены в 8 публикациях, среди которых 6 статей в журналах, индексируемых в международных базах цитирования (Scopus), 2 статьи в изданиях перечня РУДН, а также в тезисах и устных докладах: XII и XIII Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, Россия, 2023, 2024); XIII межвузовская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых с международным участием «Научная весна 2023» (Самара, Москва, Саратов, Санкт-Петербург, Россия, 2023); XVII Международная Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых (Москва, Россия, 2022).

**Личный вклад автора.** Работа выполнена при непосредственном участии автора: экспериментальная часть, обработка и интерпретация результатов, подготовка и публикации научных статей в соавторстве с научными коллективами кафедры фармацевтической и токсикологической химии Медицинского института РУДН и лаборатории молекулярной диагностики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 250 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, экспериментальную часть, выводы, библиографический список, содержащий 254 источника и приложения. Основная часть диссертации включает 21 таблицу и 51 рисунок.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Глава 1** посвящена *обзору литературы* по теме диссертационного исследования. Обобщены данные о природе, органо-тканевой проницаемости и роли наночастиц в организме. Представлен обзор о современных вакцинах для иммунизации, в частности вакцинах нового



поколения на основе VLP. Описаны фармакопейные требования к контролю качества вакцин, охарактеризованы современные физико-химические методы анализа для исследования морфологических признаков VLP. Обобщены данные о химическом составе и фармакологических свойствах биологически активных соединений, содержащихся в ЛРП календулы и эвкалипта. Охарактеризованы детали компьютерного молекулярного дизайна метода ККСА в прогнозировании биологически активных соединений ЛРС. Обсуждаются перспективы применения МГК в фармации.

В **Главе 2** диссертационной работы описаны *материалы и методы*, использованные в исследованиях: синтез VLP, на основе которых произведены вакцины против SARS-CoV-2 и ротавируса А; данные о производителе, серии, сроках годности VLP-вакцин и ЛРП. Представлены характеристики и состав растворителей: высокоомная вода (18,5 МОм•см); буферные растворы: ТНС (Трис(гидроксиметил)аминометан, NaCl, CaCl<sub>2</sub>. pH = 7,2–7,4); PBS (натрий-фосфатный буфер, pH = 7,4).

Для измерения  $\zeta$  – потенциала и распределения светорассеяния частиц дисперсной фазы VLP-вакцин и ЛРП по интенсивности и объёму в зависимости от размера использовали метод динамического светорассеяния (Zetasizer Nano ZS, Malvern, Великобритания). Оценку дисперсности гомогенизированного ЛРС проводили с помощью метода малоуглового светорассеяния (LALLS – Low-angle laser light scattering, Malvern, Великобритания). Оптическую активность галеновых препаратов определяли методом поляриметрии (поляриметр POL<sup>1/2</sup>, АТАГО, Япония). Значения pH настоек определяли с помощью pH-метра РВ–11 (Sartorius AG, Финляндия); удельную электропроводность – кондуктометром ТЕ 52 ЕС (ТЕС-НУ, Китай). Для получения ИК-спектров использовали прибор ИК-НПВО с Фурье-преобразованием (Agilent Cary 630, США). Элементный состав ЛРС определяли с помощью энергодисперсионного рентгенофлуоресцентного спектрометра (Shimadzu, EDX-7000, Япония). Электронные спектры снимали на спектрофотометре Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, США). Для анализа комбинированной биологической активности настоек *in vitro* использовали метод *Spirotox-тест*.

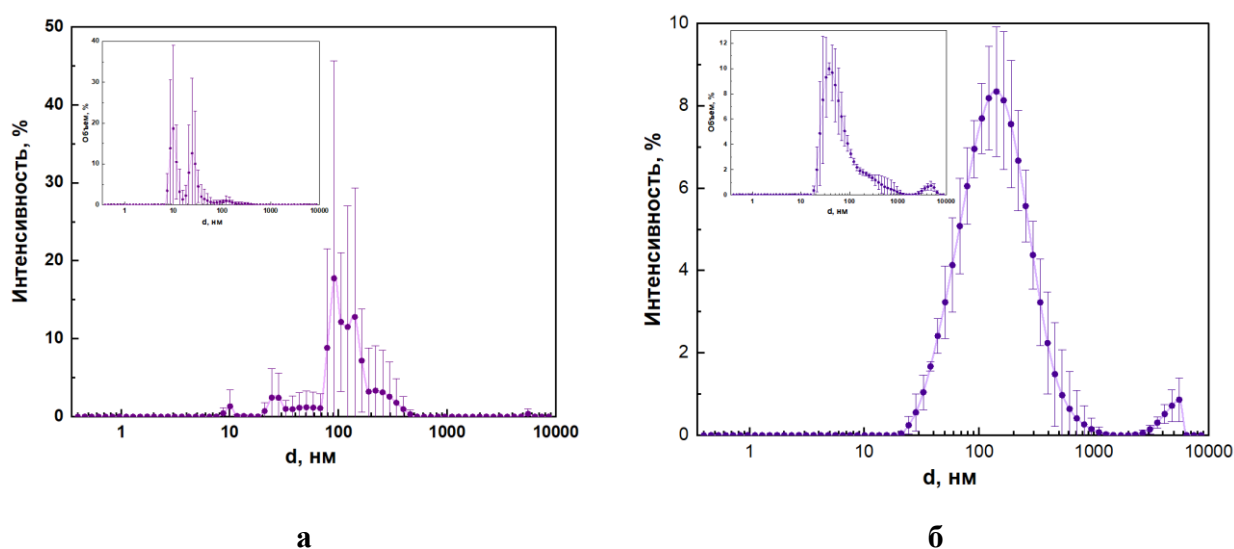
Построение топологических графов биологически активных компонентов ЛРС и расчета топологического индекса Винера (W) использовали пакеты зарегистрированных программ «ChemicPen» и «ChemicDescript» (Понов П.И., Роспатент № 2003612305, 2003; Попов П.И., Роспатент № 2005612770, 2005). Данные о полумлетальных дозах (LD<sub>50</sub>, крысы, *per os*) получали из открытых баз данных «PubChem» (National Medicine Library – Nation Center for Biotechnological Information, USA), «DrugBank» (Canadian Institutes of Health Research).

**Глава 3** диссертационной работы посвящена *результатам исследования и их обсуждению*.

### 3.1. Дисперсные характеристики экспериментальных VLP, содержащих белки SARS-CoV-2 и ротавируса А в процессе их производства, и вакцин на их основе

В существующей ОФС.1.7.1.0004.15 «Вакцины и анатоксины» отсутствуют указания на нормирование размера частиц дисперсной фазы в иммунобиологических препаратах. В связи с этим для совершенствования их стандартизации чрезвычайно важны исследования размерного распределения VLP по интенсивности светорассеяния, объёму и значений электрокинетического  $\zeta$  – потенциала наночастиц.

**3.1.1. Дисперсные характеристики экспериментальных VLP.** В процессе разработки вакцин проводили испытания дисперсности VLP, имитирующих белки SARS-CoV-2. Концентрат VLP до проведения диализа характеризовался полидисперсным распределением с максимумом при 10 нм и плечом в интервале (91–142) нм (Рисунок 1). Нестабильность полидисперсной системы подтверждалась высокими значениями стандартных отклонений (SD) в каждой точке измерения. В то же время после диализа дисперсность концентрата характеризовалась узкими полосами интенсивности светорассеяния и объёмного распределения.



**Рисунок 1.** Распределение рассеяния света по интенсивности концентратов VLP, имитирующих SARS-CoV-2 (разведение буферным раствором TNC 1:100 по объёму  $V_{ал}:V_{общ}$ ): а – до диализа; б – после диализа. Вставка – объёмное распределение. Число исследованных проб:  $N = 43$ .

*Источник: Составлено автором*

Таким образом, среднее значение максимума размера VLP после очистки с доверительным интервалом ( $N = 14$ ;  $P = 0,95$ ;  $\bar{d} \pm \Delta d$ ) составило  $157 \pm 10$  нм, что соответствует размеру вириона SARS-CoV-2 (Spandana K U. et al., 2024).

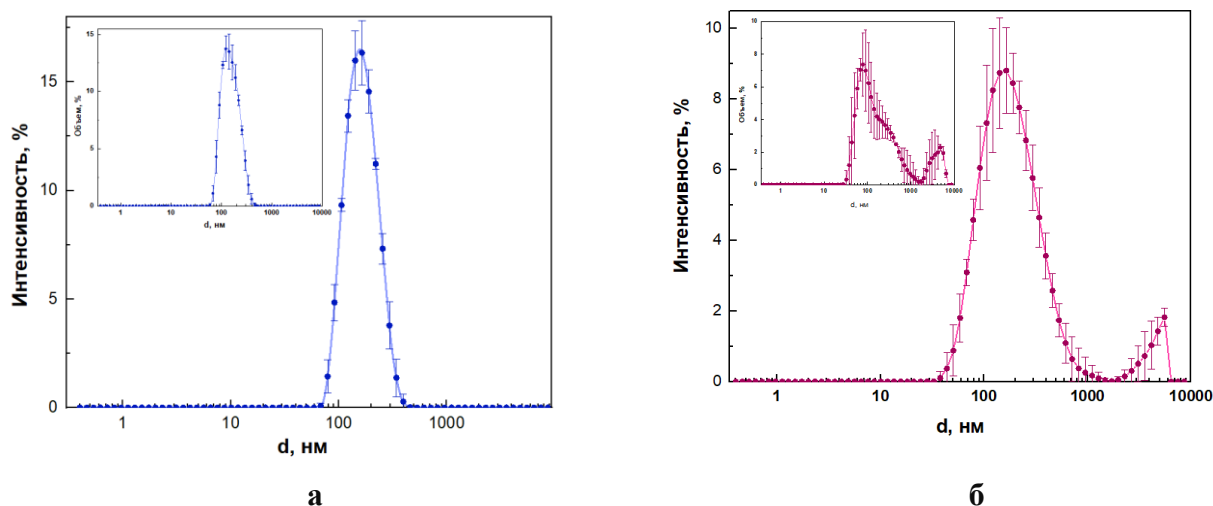
Дисперсные характеристики экспериментальных VLP, имитирующих белки ротавируса А. Культуральная жидкость, содержащая VLP ротавируса А с наиболее распространенными

генотипами VP2/VP6+VP7(G1), представляла собой полидисперсный образец со средними максимумами при 68 нм и 295 нм. Ультрацентрифугирование (2 ч, 28 000 об/мин) способствовало седиментации VLP, а последующая фильтрация (0,22 мкм) суспензированных VLP в буферном растворе, позволяла очистить вирусоподобные частицы от бактериальных клеток. Это подтверждалось одномодальным распределением по интенсивности со средним максимумом при 142 нм. Объёмное распределение характеризовалось монодисперсным распределением со средним максимумом при 79 нм. Для образцов, имеющих монодисперсное распределение по интенсивности, был рассчитан доверительный интервал для объёмного распределения ( $N = 17$ ;  $P = 0,95$ ;  $\bar{d} \pm \Delta\bar{d}$ ):  $79 \pm 5$  нм, что соответствует размеру вириона ротавируса А (*Jampanil N. et al., 2023*).

Таким образом, контроль размера VLP по интенсивности и объёму светорассеяния на разных этапах выделения и очистки позволил подобрать оптимальные условия для их производства.

### 3.1.2. Дисперсные характеристики вакцин нового поколения на основе VLP.

Размерные спектры вакцин с адьювантом по интенсивности характеризовались монодисперсностью независимо от дозы и серии препарата. Например, для вакцины Гам-VLP-мультивак 80 мкг/доза (серия № 019-010523) средний максимум распределения находился при ( $\bar{d} \pm SD$ ):  $169 \pm 3$  нм, что статистически не отличалось от препарата с дозировкой 60 мкг/доза (серия № 020-020823-60):  $168 \pm 2$  нм. Для вакцины Гам-VLP-рота 120 мкг/доза (№ 020-020823-120) в спектре интенсивности сохранялся тот же характер распределения VLP со средним максимумом при  $169 \pm 2$  нм (Рисунок 2 Рисунок 2).



**Рисунок 2.** Интенсивность рассеяния света вакцин с адьювантом: а – Гам-VLP-мультивак; б – Гам-VLP-рота. Разведение буферным раствором TNC (1:100 по объёму  $V_{ал}$ :  $V_{общ}$ ). Число исследованных проб: Гам-VLP-мультивак  $N = 9$ ; Гам-VLP-рота  $N = 5$ .

*Источник: Составлено автором*

Среднее значения электрокинетического потенциала частиц дисперсной фазы для разных типов и серий VLP – вакцин находилось в интервале ( $N = 5$ ;  $\zeta \pm SD$ ):  $37,4 \pm 5,6$  мВ, что превышало значения стабильности дисперсных систем (Clogston J.D. et al., 2011; «*Определение дзета-потенциала методом электрофоретического рассеяния света*», ОФС.1.1.1.0005 ГФ РФ XV).

**3.1.3. Валидационные характеристики методики контроля VLP-вакцин с адьювантом по показателю «размер частиц» методом DLS.** Валидацию методики контроля качества вакцины против SARS-CoV-2 на основе VLP для внутримышечного введения по показателю «распределение частиц по размеру» проводили в соответствии с ГФ РФ («*Определение распределения частиц по размеру методом лазерной дифракции света*», ОФС.1.2.1.0008.15 ГФ РФ XV и «*Валидация аналитических методик*», ОФС.1.1.0012 ГФ РФ XV). Валидационные характеристики пригодности методики соответствовали критериям приемлемости: «повторяемость» ( $N = 14$ ;  $RSD = 2,94$  %), «внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность» ( $N = 28$ ;  $RSD = 2,96$  %), «правильность» ( $N = 28$ ;  $P = 0,95$ ; ( $N = 14$ ;  $P = 0,95$ ;  $\bar{d} \pm \Delta d$ ):  $169 \pm 2$  нм, при этом относительная ошибка среднего ( $\bar{\epsilon} = 1,2$  %) не превышала 5 %; «специфичность» методики доказана отсутствием мешающих факторов.

Таким образом, методику следует считать прошедшей валидацию в соответствии с фармакопейными требованиями.

**3.1.4. Мониторинг стабильности VLP-вакцин с адьювантом.** Стабильность трёх серий вакцин Гам-VLP-мультивак с адьювантом исследовали в течение 12 месяцев, контролируя изменение размера частиц дисперсной фазы. Хранение вакцин осуществлялось на протяжении всего срока исследований при рекомендуемом производителем температурном режиме ( $T = 4$  °С). Средний диаметр и доверительный интервал наночастиц ( $N = 126$ ;  $P = 0,95$ ; ( $N = 14$ ;  $P = 0,95$ ;  $\bar{d} \pm \Delta d$ ) был равен  $169,2 \pm 0,3$  нм, т. е. соответствовал установленным ранее размерам частиц Гам-VLP-мультивак с адьювантом.

Высокая стабильность на протяжении всего исследования позволила рекомендовать производителю срок годности вакцин Гам-VLP-мультивак с адьювантом – не менее 1 года.

Представленные результаты были внедрены в практику предприятия-разработчика в форме стандарта предприятия (СТП), зарегистрированного как «Метод контроля стабильности VLP – вакцин», № 01897357-002-2023.

Таким образом, полученные результаты по показателю «дисперсность» характеризуют исследованные VLP – вакцины как стабильные коллоидные системы и могут быть использованы для включения в обновленную редакцию ОФС.1.7.1.0004.15 «Вакцины и анатоксины» как значимые показатели качества.

## 3.2. Физико-химические методы в определении подлинности лекарственных растительных препаратов

**3.2.1. Поляриметрия в контроле качества настоек.** Проведенный нами анализ структур 36 известных компонентов настоек календулы (Olenikov D.N. et al. 2017) показал, что 19 из них имеют один или несколько хиральных центров. Для листьев эвкалипта соотношение оптически активных соединений к общему числу идентифицированных ранее компонентов составляет 25:43 (58%). Принимая во внимание возможность влияния хирального переключения на биологическую активность ЛП (Levitskaya O.V. et al., 2024), представляло интерес исследование оптической активности галеновых препаратов выбранного фармакологического класса. Углы вращения плоскости поляризованного света настоек календулы и эвкалипта семи производителей имели отрицательные значения. Только одна из настоек календулы (производитель X) имела правое вращение. Обнаруженное левое вращение совпало с результатами, полученными ранее для настоек разных ботанических родов другого фармакологического класса. При одинаковом разведении 70% этанолом, средние значения оптической активности настоек календулы и эвкалипта отличались в 3 раза. Таким образом, была подтверждена установленная ранее для других ботанических родов возможность быстрой идентификации настоек методом поляриметрии.

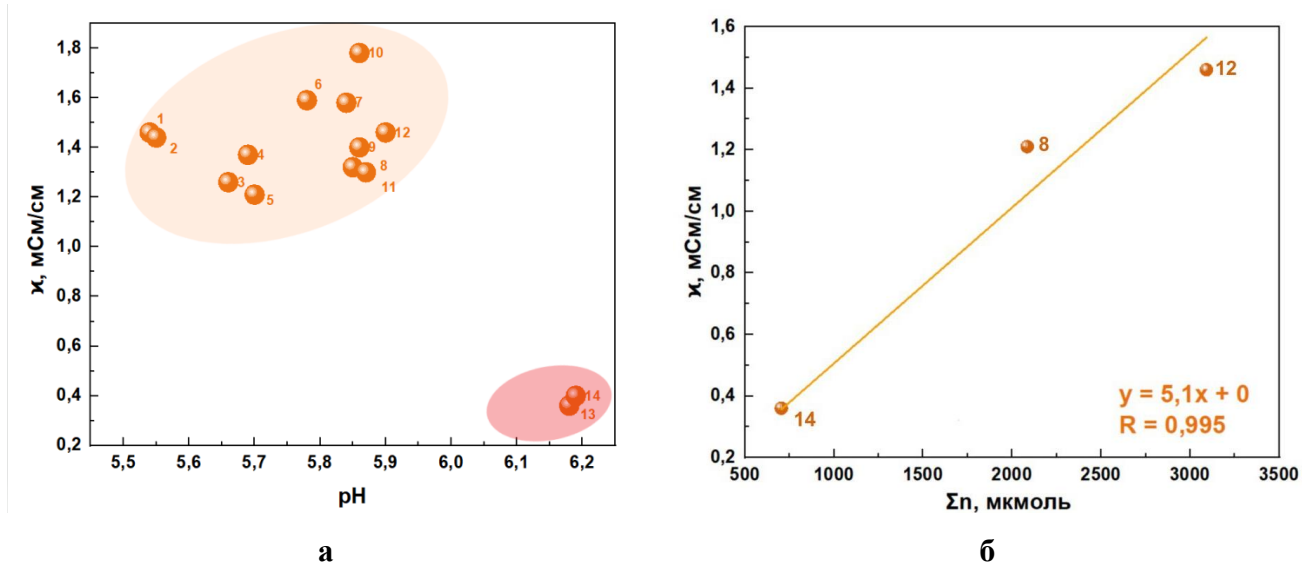
**3.2.2. Электрохимические методы в контроле качества настоек.** Впервые для оценки доброкачественности настоек был применен фармакопейный метод – кондуктометрия («Электропроводность», ОФС.1.2.1.0020.15 ГФ РФ XV). Значения удельной электропроводности ( $\bar{x}$ ) настоек календулы оказались в три раза выше, чем настоек эвкалипта (Таблица 2).

**Таблица 1.** Удельная электропроводность настоек (P = 0,95), при 25 °С.

Настойка	$\bar{x} \pm \Delta x$ , мкСм/см
Календулы (N=14)	1,53 ± 0,22
Эвкалипта (N=7)	0,51 ± 0,09

Двенадцать настоек календулы из 14 на диаграмме « $\bar{x}$  – pH» заняли область, ограниченную значениями электропроводности от 1,2 до 1,8 мСм/см и значениями pH в интервале 5,5–5,9 (Рисунок 3, Рисунок 3а). Настойки календулы производителя ЛСР-006574/09 двух разных серий (№ 13, 14) оказались вне выбранной области электрохимических характеристик. Методом РФА было продемонстрировано, что значения удельной электропроводности увеличивались пропорционально содержанию токопроводящих частиц в настойке – ионов неорганической природы или их координационных соединений с

органическими лигандами, экстрагируемыми из ЛРС. Суммарное количество макро- и микроэлементов в настойке производителя ЛРС-006574/09 (№14) также не соответствовало найденным средним значениям (Рисунок 3б). В то же время недоброкачественная продукция производителя соответствовала нормативным фармакопейным требованиям по массе сухого остатка. Это указывает на необходимость введения дополнительных методов контроля качества настоек.



**Рисунок 3.** Удельная электропроводность и рН настоек календулы – а; корреляция удельной электропроводности и элементного состава настоек календулы – б.

*Источник: Составлено автором*

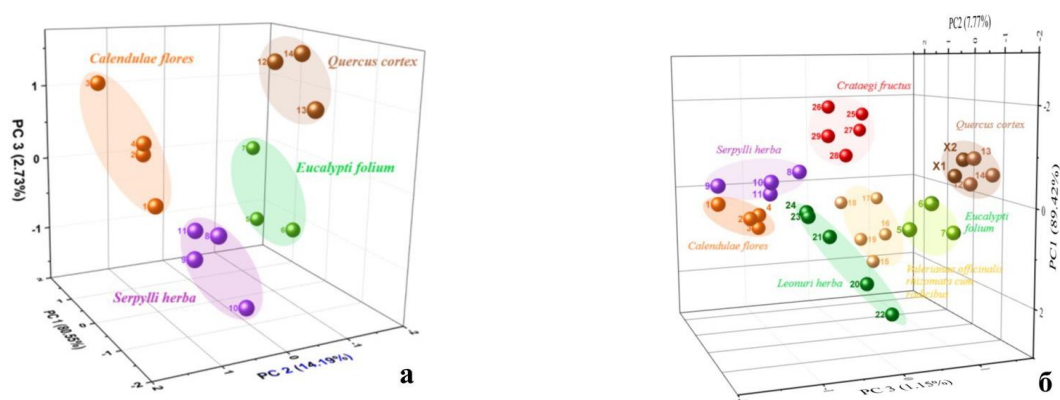
Таким образом, удельная электропроводность и потенциометрия могут быть включены в ФС как дополнительные показатели качества настоек.

**3.2.2. Метод ГХ-МС в поиске фитомаркеров для разработки СО.** Несмотря на длительное использование настоек, лишь для настойки валерианы используются фитомаркеры валереновой и ацетоксивалереновой кислот, которые были внедрены в практику фармацевтического анализа в качестве СО (*Ph. Eur.11.5*). В связи с этим нами были проведены скрининговые исследования компонентов настоек эвкалипта и календулы методом ГХ-МС, позволившие предложить индивидуальные биомаркеры для разработки СО. Из обнаруженных десятков компонентов были выбраны те, которые имели наиболее высокие аналитические сигналы и присутствовали как в производственных, так и в настойках, изготовленных в лаборатории. Например, в настойках эвкалипта был идентифицирован 1,8-цинеол (эвкалиптол), а в настойках календулы – 7-ацетил-2-гидрокси-2-метил-5-изопропилбицикло[4,3,0]нонан и 1,6-диметил-4-пропанил-2-1,2,3,7,8,8а-гексагидронафталин (эпизонарен). Эти соединения могут быть рекомендованы для дальнейшей разработки и внедрения в качестве СО.

### 3.3. Тандемный подход в определении подлинности ЛРС с антибактериальными и противовоспалительными свойствами

**3.3.1. Хемометрическая обработка ИК-спектров ЛРС в области «фингерпринт».** ИК-спектры проб неизмельченного ЛРС, взятых из аптечной упаковки, представляли собой сплошное пропускание, не позволяющее выделить отдельные спектральные полосы. Диспергирование и гомогенизация позволили получить ИК-спектры, но полосы интенсивности пропускания практически не отличались для разных ботанических родов, что не позволяло идентифицировать ЛРС.

Для хемометрической обработки МГК спектральных данных впервые было предложено использовать область «фингерпринт» ИК-спектров ( $1500\text{ см}^{-1}$  до  $650\text{ см}^{-1}$ ). Многомерный анализ 14 различных образцов с выбранным шагом значений волновых чисел ( $N_i = 913$ ) позволил оперировать с первичной матрицей, включающей более 12 тысяч значений:  $N = 14 \times 913 = 12782$ . Для характеристики специфичности метода оценки подлинности ЛРС в библиотеку спектральных данных были включены образцы растительных препаратов неизвестного происхождения («слепые образцы» D1, D2). Кроме того, сформированная библиотека данных была дополнена образцами ЛРС, используемого для получения галеновых препаратов другого фармакологического класса – кардиотонического, седативного, гипотензивного действия. При этом общая база спектральных данных для включения в первичную матрицу превысила 28 тыс значений:  $N = 31 \times 913 = 28303$ . Анализ МГК показал, что неизвестное сырьё заняло область, соответствующую коре дуба, что позволило безошибочно определить природу ЛРС, предоставленного заказчиком. Три образца ЛРС выбранной дополнительной фармакологической группы, также образовали отдельные неперекрывающиеся кластеры ([Рисунок 4](#)).



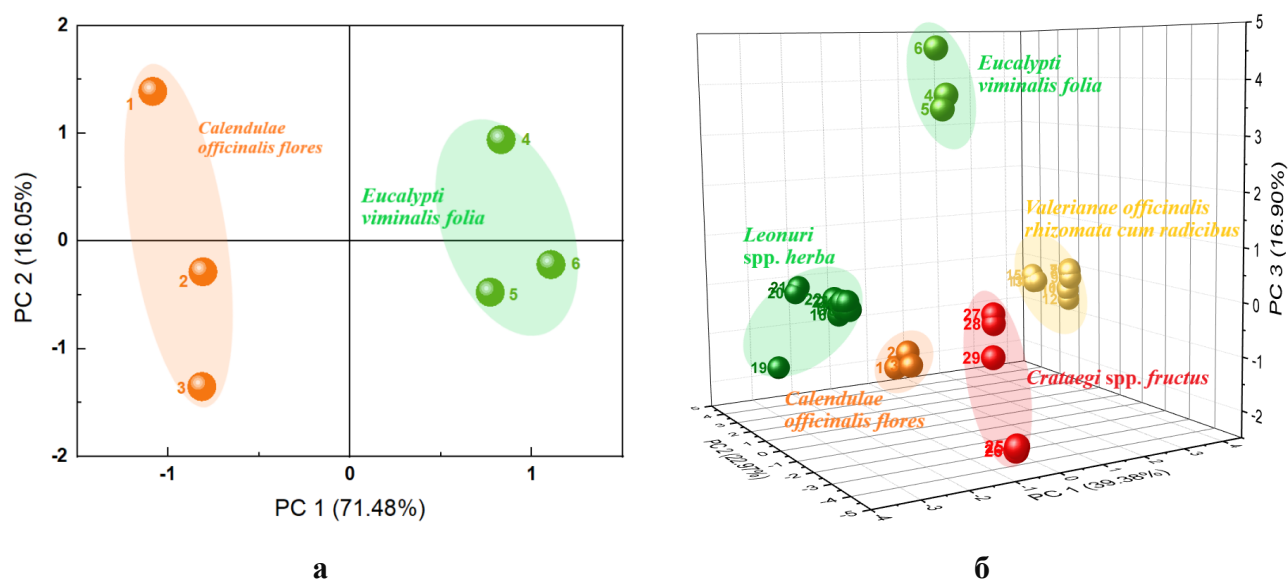
**Рисунок 4.** Результаты хемометрической обработки ИК-спектров трехмерной модели в области «фингерпринт»: а – ЛРС антибактериального и противовоспалительного действия; б – ЛРС о разных ботанических родов: 1-4 – календулы цветки, 5-7 – эвкалипта листья, 8-11 – чабреца трава, 12-14 – кора дуба, 15-19 – валерианы корневища с корнями, 20-24 – пустырника трава, 25-29 – боярышника плоды, D1-D2 – «слепые образцы».

Источник: Составлено автором



Таким образом, разработана методика определения подлинности ботанических родов ЛРС без использования СО, валидированная по показателю «специфичность» согласно фармакопейному требованию.

**3.3.2. Определение подлинности ЛРС без использования СО путем обработки результатов РФА методом главных компонент.** Тандемный подход, использующий метод РФА и МГК, позволил различить диспергированное гомогенизированное сырье разных производителей, каждое из которых заняло отдельную область в двумерном или трехмерном пространствах в соответствии с ботаническим родом и рекомендуемыми расстояниями Махалонобиса ( $\geq 3SD$ ) (Li Q. et al., 2020). Расширение библиотеки полученными ранее результатами по элементному профилю ЛРС другой фармакологической группы продемонстрировало специфичность методики в определении подлинности (Рисунок 5Рисунок 5).



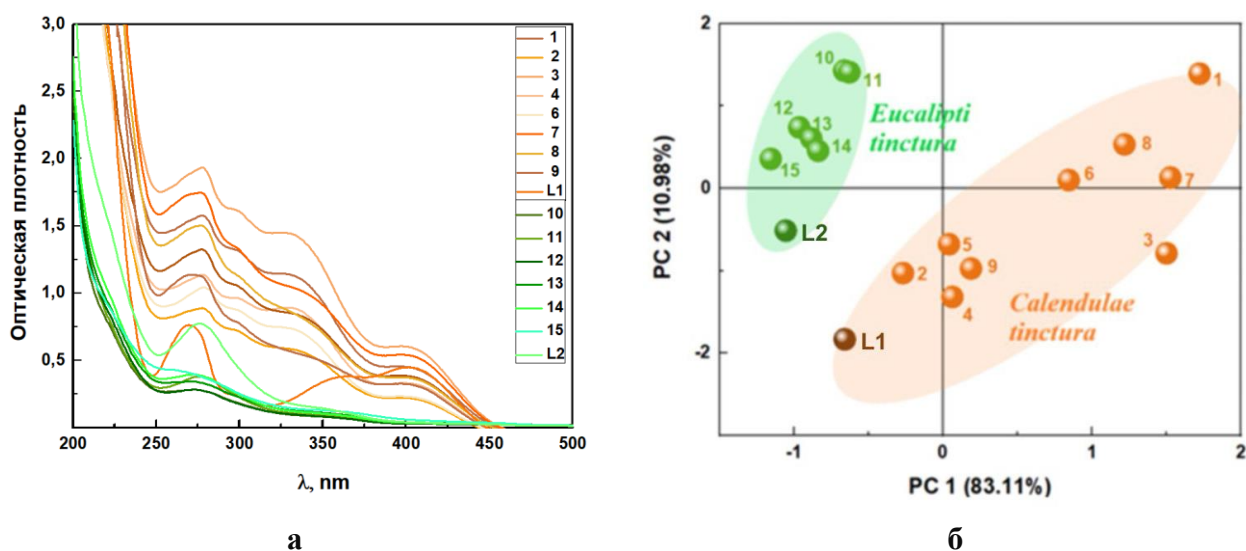
**Рисунок 5.** Результаты хемометрической обработки РФА: а - двумерная, б - трехмерная модели. ЛРС: 1-3 – календулы цветки, 4-6 – эвкалипта листья, 7-15 – валерианы корневища с корнями, 16-24 – пустырника трава, 25-29 – боярышника плоды.

*Источник: составлено автором*

Таким образом, методика, включающая результаты элементного анализа методом РФА и хемометрической обработки МГК, позволила отличить ЛРС календулы и эвкалипта. Разработанная методика характеризуется специфичностью и позволяет определить подлинность ЛРП антибактериального и противовоспалительного действия без использования СО.



**3.3.3. УФ-спектрофотометрия настоек эвкалипта и календулы в определении подлинности.** Спектры настоек календулы и эвкалипта в ультрафиолетовой области, не могут быть использованы для определения подлинности в связи с присутствием соединений одних и тех же химических классов. Но хемометрическая обработка УФ-спектров 15 различных образцов настоек позволила осуществить их идентификацию. Выбранный шаг значений длин волн позволил оперировать с первичной матрицей, включающей более 9 тысяч значений:  $N = 15 \times 601 = 9015$ . Для характеристики специфичности метода оценки подлинности настоек календулы и эвкалипта были использованы лабораторные настойки календулы и эвкалипта (L1, L2). Анализ МГК показал, что лабораторные настойки заняли области, соответствующие аптечным настойкам календулы и эвкалипта, что позволило безошибочно определить их ботанический род (**Рисунок 6**).



**Рисунок 6.** УФ-спектры настоек, спиртовое разведение 1:10 (а) и результат их хемометрической обработки (б). Настойки: 1-9 – календулы; 10-15 – эвкалипта, L1 и L2 – настойки календулы и эвкалипта, изготовленные в лаборатории.

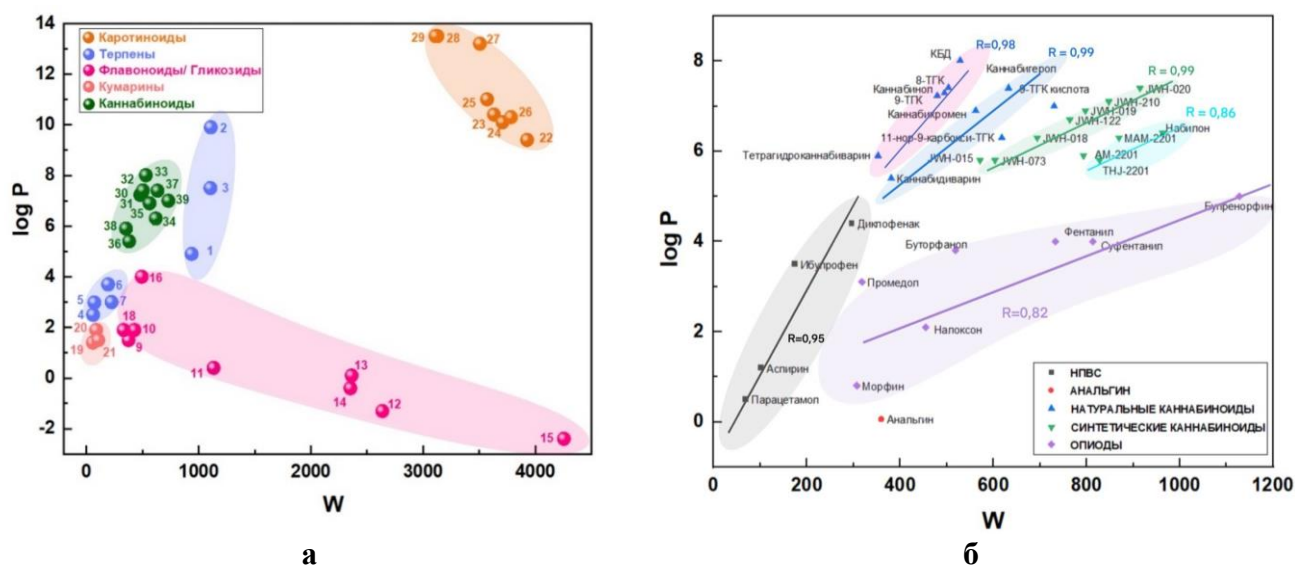
*Источник: составлено автором*

Таким образом, разработанная методика определения подлинности галеновых препаратов с использованием электронной спектрофотометрии с последующей хемометрической обработкой МГК позволила идентифицировать настойки календулы и эвкалипта без использования СО. Разработанная методика валидирована по показателю «специфичность».

### 3.4. Прогноз биологической активности ЛРП разных ботанических родов в сравнении с НПВС *in silico*

Растения разных ботанических родов чаще всего содержат незначительное число специфических, характерных для данного рода, соединений. Например, в листьях эвкалипта находят флаваноид эвкалиптин (Hu X.L. et al., 2021) и терпен 1,8-цинеол (эвкалиптол) (Juergens U.R., 2014). Для цветков календулы характерно преобладание каротиноидов (Shahane K. et al., 2023). Специфическими компонентами каннабиса являются каннабиноиды, в том числе не проявляющие психоактивность (Syroeshkin A. V. et al., 2022), что подтверждает их успешное применение за рубежом в качестве эффективной альтернативы синтетическим НПВС (Überall M.A., 2020). Тем не менее, в растениях разных ботанических родов присутствуют соединения одних и тех же химических классов - терпенов, флавоноидов, кумаринов, летучих эфиров (Shahane K. et al., 2023).

Сформированная нами библиотека значений липофильности общих и специфических компонентов растений трёх ботанических родов, а именно эвкалипта, календулы и каннабиса, позволила обнаружить взаимно однозначные соответствия между липофильностью ( $\log P$ ) и топологическим индексом Винера ( $W$ ). Сравнивая значения липофильностей соединений рассматриваемых классов, можно прогнозировать более высокую проницаемость каротиноидов через клеточную мембрану и следовательно, более высокую биологическую активность в клетке (Рисунок 7, Приложение 7). Обнаруженная более высокая биодоступность каннабиноидов позволяет использовать их в более низкой терапевтической дозе по сравнению с синтетическими анальгетиками.



**Рисунок 7.** Взаимно-однозначные соответствия индексов Винера ( $W$ ) и липофильности ( $\log P$ ) компонентов ЛРС и каннабиноидов (а) в сравнении с группой НПВС и опиоидными анальгетиками (б).

Источник: Составлено автором

Из представленных диаграмм для каннабиноидов и синтетических ЛС класса НПВС следует, что липофильность любого впервые обнаруженного соединения может быть спрогнозирована после расчета его топологического индекса Винера без экспериментальных исследований на биологических объектах.

### 3.5. Оценка биологической активности настоек эвкалипта и календулы *in vitro*

Литературные данные по токсичности настоек практически отсутствуют. Ранее была обнаружена корреляция между полумлетальными дозами фармацевтических субстанций ( $LD_{50}$ ) для млекопитающих и кажущейся энергией активации ( $^{obs}E_a$ ) гибели инфузории *Sp. ambiguum* (Сыроешкин А.В., Левицкая О.В. и др., 2017). Такой подход базируется на понятии лиганд-рецепторных взаимодействий между рецептором нативных структур и биологически активными соединениями. В связи с отсутствием данных по токсичности настоек корреляционная зависимость « $^{obs}E_a-LD_{50}$ » должна позволить охарактеризовать суммарную биологическую активность компонентов галеновых препаратов выбранного фармакологического класса.

**3.5.1. Контроль дисперсности настоек и оценка их биологической активности методом аррениусовской кинетики.** В связи с возможными механотрансдукционными воздействиями частиц дисперсной фазы настоек перед определением кажущейся энергии активации  $^{obs}E_a$  лиганд-рецепторных взаимодействий была проведена оценка дисперсности водных разведений настоек календулы и эвкалипта, которая характеризовалась узкими мономодальными распределениями со средним максимумом ( $N=5; \bar{d} \pm SD$ ):  $164 \pm 4$  нм – для календулы и  $106 \pm 2$  нм – для эвкалипта.

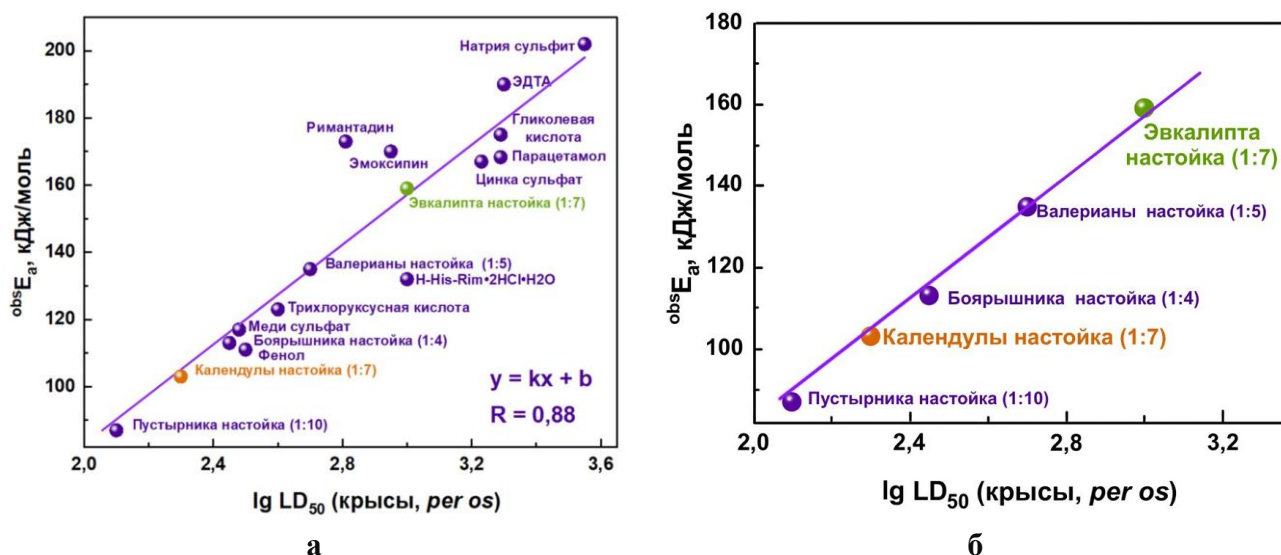
Несмотря на однотипность спектров распределения частиц дисперсной фазы, значения их электрокинетических потенциалов были различны. Так дзета-потенциал для водного разведения настойки календулы составлял ( $N = 5; \bar{\zeta} \pm SD$ ):  $-33,7 \pm 2,2$  мВ. Это значение характеризовало настойку календулы в соответствующем разведении как устойчивую коллоидную систему (Ferreyra Maillard APV. et al., 2021; Clogston J.D. et al., 2021). Дзета-потенциал водного разведения настойки эвкалипта оказался примерно вдвое меньше ( $N=5; \bar{\zeta} \pm SD$ ):  $-14,5 \pm 1,6$  мВ. Таким образом, монодисперсность, присутствие частиц с размерами в нанометровом диапазоне и достаточно высокие значения электрокинетических потенциалов позволяют характеризовать водные разведения настоек как стабильные системы.

**3.5.2. Оценка комбинированной биологической активности настоек эвкалипта и календулы методом *Spirotox-тест*.** Найденные значения кажущейся энергии активации гибели *Sp. ambiguum* ( $^{obs}E_a$ ) свидетельствуют о большей комбинированной биологической активности/токсичности настойки календулы по сравнению с настойкой эвкалипта.

Статистически различимые значения кажущихся энергий активаций лиганд-рецепторных взаимодействий *Sp. ambiguum* ( $N = 5$ ;  $^{obs}E_a \pm SD$ , кДж/моль,) водных разведений (1:7) настоек и 70%-ого этанола позволяют расположить их в ряд увеличения токсичности: этанол ( $258 \pm 8$ ) < эвкалипт ( $159 \pm 5$ ) < календула ( $103 \pm 18$ ).

Как следует из проведенного ККСА-моделирования, каротиноиды обладают самой высокой липофильностью по сравнению с другими компонентами растений (см. [Рисунок 7](#)), что в значительной мере определило их биодоступность, а значит, и комбинированную токсичность для выбранной клеточной модели – инфузории *Sp. ambiguum*.

Полученные результаты определения кажущейся энергии активации  $^{obs}E_a$  гибели *Sp. ambiguum* в аррениусовских координатах позволили дополнить имеющуюся диаграмму « $^{obs}E_a$ – $LD_{50}$ » и осуществить прогнозирование комбинированной токсичности настоек календулы и эвкалипта ( $LD_{50}$ , крысы, *per os*) ([Рисунок 8](#)).



**Рисунок 8.** Диаграммы взаимно-однозначных соответствий между кажущейся энергией активации гибели клеточного биосенсора  $^{obs}E_a$  и  $LD_{50}$  (мг/кг) для лабораторных животных (крысы, *per os*) в полулогарифмических координатах: а – для настоек и ЛС органической и неорганической природы; б – для настоек двух фармакологических классов.

Источник: Составлено автором

Из диаграммы следует, что прогнозируемая комбинированная токсичность настойки календулы превышает токсичность настойки эвкалипта. Сравнение полученных результатов с настойками другой фармакологической группы (Pleteneva T. V., Galkina D.A. et al., 2023) позволяют ранжировать их в порядке уменьшения токсичности ( $LD_{50}$ , мг/кг): этанол (> 4000) < эвкалипт (1000) < валерианы (500) < календула (200) < пустырника (160).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В диссертации разработан комплексный подход к контролю качества противовирусных и антибактериальных ЛС на основе оптических, электрохимических, хеометрических и биокинетических методов. Результаты оценки дисперсности VLP-вакцин были внедрены в практику предприятия-разработчика в виде стандарта «Метод контроля стабильности VLP – вакцин», № 01897357-002-2023. Продемонстрировано применения оптических и электрохимических методов анализа для оценки доброкачественности галеновых препаратов. Разработанный подход определения подлинности ЛРП антибактериального и противовоспалительного действия, основанный на хеометрической (МГК) обработке спектральных данных (ИКФС НПВО, РФА, УФ) использован для определения подлинности ботанического рода ЛРП в отсутствие СО. Оценка методом ККСА липофильности компонентов ЛРП в сравнении с НПВС позволяет прогнозировать их биодоступность без экспериментальных исследований на животных. Разработанные методом *Spirotox-тест* диаграммы «<sup>obs</sup>Ea – LD<sub>50</sub>» настоек календулы и эвкалипта важны для оценки, комбинированной токсичности их компонентов.

## ВЫВОДЫ

1. Разработан комплексный подход к контролю качества некоторых противовирусных и антибактериальных лекарственных средств на основе спектральных, электрохимических, хеометрических и биологических методов.

2. Разработана методика оценки стабильности VLP-вакцин нового поколения на основе метода динамического светорассеяния (DLS). Установлено, что вакцины характеризуются моодисперсным распределением ( $\bar{d} \pm SD$ ), нм: Гам-VLP-мультивак ( $169 \pm 3$ ); Гам-VLP-рота ( $168 \pm 2$ ). Значения электрокинетического потенциала ( $\bar{\zeta} \pm SD$ ), мВ: Гам-VLP-мультивак ( $-34,5 \pm 0,7$ ) и Гам-VLP- рота ( $-43,0 \pm 0,4$ ) свидетельствуют о высокой стабильности вакцин как коллоидных систем. Результаты включены в стандарт предприятия «Метод контроля стабильности VLP вакцин», № 01897357-002-2023.

3. Продемонстрирована возможность использования:  
*поляриметрии* для идентификации настоек календулы и эвкалипта (3-х кратные различия угла оптического вращения  $\alpha^\circ$ ) и отличия их от с настоек других ботанических родов;  
*удельной электропроводности и pH* для экспрессного обнаружения недоброкачественной продукции;

*ГХ-МС* для обнаружения биомаркеров: календулы – 7-ацетил-2-гидрокси-2-метил-5-изопропилбицикло[4,3,0]нонана (эпизонарен) и эвкалипта – 1,8-цинеола (эвкалиптол).

4. Разработаны методики определения подлинности ЛРП разных ботанических родов (календулы, эвкалипта, коры дуба, чабреца травы) без использования СО путем обработки

спектральных данных (ИКФС НПВО, РФА, УФ) МГК. Методики определения подлинности охарактеризованы по фармакопейному валидационному параметру – *специфичности*.

5. Разработаны ККСА-диаграммы для сравнительной характеристики липофильных свойств ( $\log P$ ) компонентов растений и синтетических ЛС класса НПВС, позволяющие оценить различия в их биодоступности.

6. На основе аррениусовской кинетики (*Spirotox-тест*) оценена комбинированная биологическая активность настоек ( $^{obs}E_a \pm SD$ ), кДж/моль: календулы ( $103 \pm 2$ ) и эвкалипта ( $159 \pm 5$ ), что позволило дополнить корреляционную диаграмму « $^{obs}E_a - LD_{50}$ ».

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

**AUC** – area under curve / площадь под кривой

**DLS** – dynamic light scattering / динамическое светорассеяние

**LALLS** – low-angle laser light scattering / малоугловое рассеяние лазерного света

**LD<sub>50</sub>/ЛД<sub>50</sub>** – lethal dose / полулетальная доза

**LogP** – логарифм отношения концентраций исследуемой субстанции в октанолу и в воде ( $C_{октанол}/C_{вода}$ )

**$^{obs}E_a$**  – кажущаяся энергия активации биологической активности соединений

**Ph. Eur.** – European Pharmacopoeia / фармакопея Евросоюза

**SD** – стандартное отклонение

**USP NF** – United States Pharmacopoeia and National formulary / Фармакопея США и Национальный формуляр

**VLP** – virus like particles / вирусоподобные частицы

**W** – топологический индекс Винера

**V<sub>ал</sub>** – объем аликвоты

**V<sub>общ</sub>** – общий объем

**АФИ** – активный фармацевтический ингредиент

**ГК/РС** – главная компонента/principal component

**ГЛФ** – готовая лекарственная форма

**ГФ РФ** – государственная фармакопея Российской Федерации

**ГХ-МС** – газовая хроматография с селективным масс-детектированием

**ИКФС НПВО** – инфракрасная спектроскопия нарушенного полного внутреннего отражения с Фурье преобразованием

**ККСА/QSAR** – количественная корреляция структура-активность/quantitative structure – activity relationship

**ЛП** – лекарственный препарат

**ЛРП** – лекарственный растительный препарат

**ЛРС** – лекарственное растительное сырье

**ЛС** – лекарственное средство

**ЛФ** – лекарственная форма

**МГК/РСА** – метод главных компонент/principal component analysis

**мРНК** – матричная рибонуклеиновая кислота

**НПВС** – нестероидные противовоспалительные лекарственные средства

**ОФС** – общая фармакопейная статья

**РФА** – рентгенофлуоресцентный анализ

**СО** – стандартный образец

**СТП** – стандарт предприятия

**УФ** – ультрафиолетовая (спектрофотометрия)

**ФС** – фармакопейная статья

## Список научных работ, опубликованных по теме диссертации

### Международные базы цитирования:

1. Pleteneva, T. V. The new approaches to identification of tinctures and medicinal plants / T. V. Pleteneva, D. D. Ogotoeva, O. V. Levitskaya, **D. A. Galkina**, E. V. Uspenskaya, A. V. Syroeshkin // International Journal of Applied Pharmaceutics. – 2024. – V. 16. – N. 2. – P. 306-312. DOI: 10.22159/ijap.2024v16i2.49780.
2. Petrov, G.V. Controlling the Quality of Nanodrugs According to Their New Property—Radiothermal Emission / G. V. Petrov, **D. A. Galkina**, A. M. Koldina, T. V. Grebennikova, O. V. Eliseeva, Y. Y. Chernoryzh, V. V. Lebedeva, A. V. Syroeshkin // Pharmaceutics. – 2024. – V. 16. – N. 2. – P.180. DOI:10.3390/pharmaceutics16020180.
3. Pleteneva, T. V. Arrhenius kinetics in the evaluation of the biological activity of pharmaceutical tinctures / T. V. Pleteneva, **D. A. Galkina**, O. A. Fatkulina, D. D. Ogotoeva, O. V. Levitskaya, E. V. Uspenskaya, A. V. Syroeshkin // International Journal of Applied Pharmaceutics. – 2023. – V. 15. – N 4. – P. 277–281. DOI: 10.22159/ijap.2023v15i4.48058.
4. Syroeshkin, A. V. Radiothermal Emission of Nanoparticles with a Complex Shape as a Tool for the Quality Control of Pharmaceuticals Containing Biologically Active Nanoparticles / A. V. Syroeshkin, G.V. Petrov, V. V. Taranov, T. V. Pleteneva, A. M. Koldina, I. A. Gaydashev, E. S. Kolyabina, **D. A. Galkina**, E. V. Sorokina, E. V. Uspenskaya, I. V. Kazimova, M. A. Morozova, V.V. Lebedeva, S. A. Cherepushkin, I. V. Tarabrina, S. A. Syroeshkin, A. V. Tertyshnikov, T.V. Grebennikova // Pharmaceutics. – 2023. – V. 15. – N. 3. – P.966. DOI:10.3390/pharmaceutics15030966
5. Syroeshkin, A. V. Comparison of biopharmaceutical parameters of cannabinoids and non-steroidal anti-inflammatory drugs by QSAR method / A. V. Syroeshkin, **D. A. Galkina**, D. D. Ogotoeva, O. V. Levitskaya, M. A. Morozova, T. V. Pleteneva // International Journal of Applied Pharmaceutics. – 2023. – V. 15. – N. 1. – P. 269-273. DOI: 10.22159/ijap.2023v15i1.45990
6. Syroeshkin, A.V. Polarimetry and dynamic light scattering in quality control of cardiogenic and hypotensive tinctures / A. V. Syroeshkin, D. D. Ogotoeva, **D. A. Galkina**, E. V. Uspenskaya, T. V. Pleteneva // International Journal of Applied Pharmaceutics. – 2022. – V. 14. – N 6. – P. 114-119. DOI: 10.22159/ijap.2022v14i6.45907.

### Перечень RSCI:

7. Сыроешкин, А.В. Поляриметрия и динамическое светорассеяние в контроле качества настоек / А. В. Сыроешкин, Д. Д. Оготовева, **Д. А. Галкина**, М. А. Джавахян, Т. Е. Елизарова, Е. В. Успенская, Т. В. Плетенева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2022. – Т. 25. – N 9. – С. 3-9. DOI: 10.29296/25877313-2022-09-01.
8. Сыроешкин, А. В. Сравнительное QSAR-моделирование каннабиноидов-анальгетиков и нестероидных противовоспалительных препаратов / А. В. Сыроешкин, **Д. А. Галкина**, Т. В.



Плетенева, М. А. Морозова, О. В. Левицкая // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т.24. – N 12. С. 18-23. DOI: 10.29296/25877313-2021-12-03.

**Галкина Дарья Александровна**

**(Российская Федерация)**

**КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВАКЦИН И ГАЛЕНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ  
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМИ И ХЕМОМЕТРИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ**

Диссертационная работа посвящена совершенствованию методик оценки качества некоторых противовирусных и антибактериальных лекарственных средств: вакцин нового поколения на основе VLP и ЛРП антибактериального и противовоспалительного действия на основе календулы и эвкалипта с учетом их дисперсности. Разработана и валидирована методика определения стабильности VLP-вакцин методом светодинамического рассеяния (DLS). Продемонстрирована возможность использования оптических и электрохимических методов в оценке подлинности и доброкачественности галеновых препаратов. Разработаны и валидированы методики определения подлинности ЛРС и галеновых препаратов на их основе путем обработки спектральных данных (ИКФС НПВО, РФА, УФ) МГК без использования СО. Получены ККСА-диаграммы компонентов ЛРП в сравнении с синтетическими ЛС позволяющие прогнозировать их биодоступность. Разработана методика оценки комбинированной биологической активности настоек календулы и эвкалипта (*Spirotox-тест*).

**Galkina Daria Alexandrovna**

**(Russian Federation)**

**COMPREHENSIVE STUDY OF VACCINES AND GALENIC PREPARATIONS BY  
PHYSICOCHEMICAL AND CHEMOMETRIC METHODS**

The dissertation work is devoted to the improvement of methods of quality assessment of some antiviral and antibacterial drugs: new generation vaccines based on VLP and herbal medicine of antibacterial and anti-inflammatory action based on calendula and eucalyptus taking into account their disperse properties. A methodology for determining the stability of VLP-vaccines by the method of light dynamic scattering (DLS) has been developed and validated. The possibility of using optical and electrochemical methods in the assessment of authenticity and benignity of galenic preparations was demonstrated. Methods for determining the authenticity of VLPs and galenic preparations based on them by processing spectral data (IR ATR, XRF, UV) by PCA without the use of CRS were developed and validated. QSAR-diagrams of lipophilicity of medical plants components in comparison with synthetic drugs allowing to predict their bioavailability were obtained. The method of evaluation of combined biological activity of calendula and eucalyptus tinctures (*Spirotox-test*) was developed.