

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

кандидата фармацевтических наук, доцента Люст Елены Николаевны на диссертационную работу Евдокимовой Екатерины Алексеевны на тему «Разработка методики лабораторной диагностики интоксикаций грибами рода *Amanita*: мухомором красным (*Amanita muscaria*) и мухомором пантерным (*Amanita pantherina*)», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки)

### Актуальность выполненного исследования

Употребление мухомора красного (*Amanita muscaria*, *AM*) и мухомора пантерного (*Amanita pantherina*, *AP*) с целью получения галлюциногенного эффекта и их доступность становятся факторами, способствующими росту числа острых отравлений. Понятие «микродозинг» применяется производителями для обозначения факта употребления малых доз мухоморов с целью оказания так называемого «терапевтического эффекта без вреда для организма».

В Российской Федерации хранение, покупка и продажа *AP* и *AM* в различных видах (капсул, высушенных шляпок), экстрактов, настоек из них, а также психоактивных компонентов в их составе, таких как иботеновая кислота и мусцимол, нормативно не регулируются, что стало причиной их рекреационного использования и, как следствие, большого количества отравлений.

До настоящего времени диагноз «Острое пероральное отравление мухоморами» (Токсическое действие других ядовитых веществ, содержащихся в съеденных грибах Т62.0) устанавливался только на основании анамнеза и клинической картины. Нужно учитывать, что постановка диагноза становится затруднительной для пациентов, поступающих в медицинское учреждение в состоянии комы. Химико-токсикологический анализ является обязательным элементом клинико-лабораторной диагностики согласно Приказу Министерства

здравоохранения Российской Федерации от 29.04.2025 г. №262н «Об утверждении порядка проведения медицинского освидетельствования на состояние опьянения (алкогольного, наркотического или иного токсического), включающего определение клинических признаков опьянения и правила химико-токсикологических исследований».

Повышение качества химико-токсикологических, судебно-химических исследований и в целом результатов судебно-медицинской экспертизы и клинической лабораторной диагностики является серьезной задачей аналитической токсикологии. Отсутствие стандартов и методик определения токсичных компонентов *AM* и *AP*, удовлетворяющих требованиям по валидации биоаналитических методик, вызывает существенные затруднения при получении объективных данных для постановки диагноза. Поэтому разработка частных методик и алгоритма проведения лабораторной диагностики биообъектов в случае интоксикации грибами *AM* и *AP* является актуальной темой научного исследования.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России в рамках научного направления «Разработка, изучение и стандартизация потенциально активных фармацевтических субстанций и лекарственных средств для лечения различных патологических состояний, в том числе интоксикаций и радиационных поражений» (номер государственной регистрации 124044150002-9).

### **Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность**

Впервые разработаны подходы к процедуре валидации биоаналитической методики для целей лабораторной диагностики при отсутствии стандартного образца целевого токсиканта. Установлено, что в соответствии с рекомендациями по валидации биоаналитических методик: ICH M10 (Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis), USP <621> (Хроматография); ОФС.1.2.1.2.0001 Хроматография; ЕР 2.2.46 (Хроматографические методы) валидация возможна, но требует

использования альтернативных методов оценки параметров, а в частности, определение пригодности хроматографической системы по показателям: разрешение, сигнал/шум, совпадение времени удерживания, эффективность, симметрия, высота пика, эквивалентная теоретической тарелке, селективность/специфичность, интерференционный эффект матрицы и робастность.

Впервые проведено систематизированное исследование токсических компонентов капсул сырья *AM* и *AP*. Доказано, что содержание мусцимола выше в капсулах, содержащих сырье *AP*, что оказывает влияние на особенности клинической картины отравления именно данным видом мухомора, выражающееся в «пантериновом синдроме».

Детально реализовано ботаническое и микроскопическое исследование образцов плодовых тел мухоморов, оформлены соответствующие спецификации.

Автором проведен тщательный анализ полученных спектрограмм со сформулированным мнением о химических превращениях/взаимодействиях, возможно происходящих с целевыми соединениями в условиях хранения, пробоподготовки и хроматографического анализа. Установлено, что в процессе анализа могут обнаруживаться изомеры аналитов, в частности, иботеновой кислоты.

Впервые экспериментально доказано, что наиболее информативным объектом для лабораторной диагностики отравлений мухоморами является моча. Показано, что в крови возможно только достоверное обнаружение мусцимола. Волосы непригодны для постановки диагноза как острого, так и хронического употребления мухоморов из-за высокой гидрофильности мусцимола и иботеновой кислоты и отсутствия накопления в ткани волоса.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно пункту 4. Разработка методов анализа лекарственных веществ и их метаболитов в биологических объектах для фармакокинетических исследований, эколого-

фармацевтического мониторинга, судебно-химической и наркологической экспертизы.

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

Положения и выводы диссертационной работы Евдокимом Екатерины Алексеевны основываются на достаточном объеме экспериментальных данных, а достоверность полученных результатов обеспечивается применением современных хроматографических комплексов (модульный жидкостной хроматограф Nexera XR с тандемным масс-спектрометром LCMS-8050; газовый хроматограф QP 2020, (Shimadzu, Япония) с масс-спектрометрическим детектированием и использованием программного обеспечения для обработки результатов хроматографических исследований (LabSolution (Shimadzu, Япония) и Chemstation Data Analysis, AMDIS (The Automatic Mass Spectral Deconvolution and Identification System), MassHunter Quantitative Analysis (США), библиотек масс-спектров (библиотека масс-спектров NIST17, Pmw\_TOX3.1, вероятность совпадения не ниже 85 %).

Полученные экспериментальные данные обработаны с использованием программного обеспечения MS Office в соответствии с требованиями ГФ РФ XV издания. Экспериментальная часть исследования выполнена на поверенном аналитическом оборудовании.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные автором результаты используются в учебном процессе ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России на фармацевтическом факультете по программе специалитета 33.05.01 «Фармация» на учебной дисциплине «Современные аспекты химико-токсикологического анализа наркотических средств, психотропных и других токсических веществ» и в программе ординатуры по специальности 33.08.03 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» на учебной дисциплине «Организация проведения химико-токсикологической экспертизы» (акт внедрения от 01.09.2025).

Результаты работы внедрены в практику работы химико-токсикологических лабораторий Государственного бюджетного учреждения

«Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе» (акт внедрения от 01.10.2025) и Санкт-Петербургского городского бюджетное учреждение здравоохранения «Городская наркологическая больница» (акт внедрения от 01.10.2025).

### **Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов**

Автором лично проведен поиск отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, разработаны и выполнены все стадии эксперимента на базе ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе» (СПБНИИ СП), самостоятельно проанализированы результаты исследования. Основные публикации и доклады по работе подготовлены лично автором и проведены в период с 2023 г. по 2026 г. Личный вклад автора не менее 90%.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертационная работа построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, главы об объектах и методах исследований, 3-х глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя, приложений. Изложена на 151 странице компьютерного набора, иллюстрирована 62 рисунками и 18 таблицами, список литературы включает 123 наименования (в т.ч. 73 источника зарубежной литературы).

*Во введении* диссертант обосновала актуальность выбранной темы исследования, сформулировала цель и задачи, показала научную новизну и отразила теоретическую и практическую значимость, а также представила положения, выносимые на защиту.

*В главе 1* проведен обзор литературы, изложена ботаническая, химическая и токсикологическая характеристики грибов рода *Amanita*. Дано понятия «микродозинг» и обзор нормативных документов, регулирующих оборот грибов данного рода в Российской Федерации и ряда стран мира, также обзор методик обнаружения психоактивных соединений мухомора

красного (*Amanita muscaria*, *AM*) и мухомора пантерного (*Amanita pantherina*, *AP*).

В главе 2 дана характеристика материалов, методов и объектов исследования, требования по валидационной оценке биоаналитических методик в соответствии с российскими и международными требованиями.

Глава 3 посвящена разработке методики обнаружения мускарина, мушцимола и иботеновой кислоты в плодовых телах и капсулах с порошком плодовых тел *AM* и *AP*. В начале главы представлены данные по статистике отравлений данными грибами в Санкт-Петербурге и Самарской области, что подчеркивает актуальность данного исследования. Основываясь на данные по регулированию оборота грибов рода *Psilocybe*, автором делается обоснованный вывод о необходимости включения грибов рода *Amanita AM* и *AP* в список Постановления Правительства № 681, в частности в список наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, оборот которых в Российской Федерации запрещен в соответствии с законодательством Российской Федерации и международными договорами Российской Федерации (список I).

Разработана селективная методика обнаружения мускарина, мушцимола и иботеновой кислоты методом ВЭЖХ МС/МС и проведена ее валидационная оценка.

В главе 4 показана возможность применения разработанной методики для обнаружения мушцимола и иботеновой кислоты в биологических объектах. Делается вывод, что только анализ мочи позволяет провести обнаружения иботеновой кислоты с применением дериватизации.

На основании полученных результатов разработан алгоритм лабораторной диагностики при отравлениях *AM* и *AP* и представлен фактический материал апробации разработанного алгоритма.

В заключении обобщены основные результаты исследования.

Диссертация завершается общими выводами, списком литературы и приложениями. В приложении представлены результаты анкетирования пациентов и апробации разработанной методики в ГБУ «Научно-

исследовательского института скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», а также акты внедрения.

Автореферат отражает основное содержание диссертации.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, среди которых 1 статья в издании, включенном в международные базы Scopus и PubMed

### **Достоинства, недостатки по содержанию и оформлению работы, общая оценка диссертации**

Следует отметить достаточно хороший научный язык и стиль изложения результатов проведенного исследования. Объем выполненной работы и полнота представленных фактических данных не позволяют усомниться ни в достоверности полученных результатов, ни в личном вкладе диссертанта при выполнении данной работы.

При общей положительной оценке диссертационного исследования в процессе её рецензирования возникли вопросы и замечания:

1. Представленная диаграмма на рисунке 7, характеризующая динамику острых пероральных отравлений мухоморами в период 2022-2024 год, не совсем информативна, так как иллюстрирует количество соответствующих отравлений только в процентном соотношении ко всем зарегистрированным интоксикациям мухоморами указанного периода, возможно, можно было бы представить данные относительно среднегодового количества отравлений сильнодействующими соединениями.

2. С какой целью навески порошка из капсул, содержащих, высушенные части мухомора красного и мухомора пантерного, настаивали метанолом в течение 24 ч? Метанол является универсальным растворителем, тем более гидрофильные соединения достаточно быстро и полно растворяются в нем.

3. Автором опробована пригодность ступенчатого профиля градиента для анализа целевых соединений на колонке Shim-pack GIST C18-Aqua HP 3.

Насколько необходим в данном случае сложный ступенчатый градиент? Согласно рисунку 22 общее время анализа составило около 10 мин, а времена удерживания соединений 2,3 и 3,4 мин? Может, здесь было лучше проводить хроматографирование в изократическом режиме или менее сложном градиенте.

4. В тексте работы при оценки пригодности хроматографической системы приведен предыдущий вариант ОФС.1.2.1.2.0001.15 Хроматография. В действующей редакции ОФС.1.2.1.2.0001. Хроматография значение величины фактора асимметрии  $A_s$  хроматографических пиков допускается в пределах от 0,8 до 1,8. Поэтому полученные автором величины симметрии большинства пиков вполне удовлетворяют имеющимся требованиям.

5. При проведении дансирования отмечались ли на хроматограммах пики дансилхлорида, не вступившего во взаимодействие с анализируемыми соединениями, не мешает ли он хроматографическому определению образованных производных? И прибавление серной кислоты концентрированной для прерывания процесса дериватизации дансилхлоридом не будет ли способствовать деградации дериватов?

6. С какой целью методика дериватизации 9-флуоренилметоксикарбонил хлоридом была апробирована на модельных смесях биологической жидкости (мочи), если ранее автором признается нецелесообразность применения данного реагента, в том числе для капсул, так как данный подход не позволяет получить достаточно информативные спектрограммы для четкой идентификации.

7. В работе встречаются стилистические и орфографические ошибки, которые носят единичный характер, объемные пробелы в тексте.

Однако следует отметить, что высказанные вопросы, замечания, пожелания не являются принципиальными, а носят только уточняющий и рекомендательный характер, не снижают высокой научной и практической значимости проведенных исследований, и не влияют на общую положительную оценку рассматриваемой диссертационной работы.

## **Рекомендации по использованию результатов диссертационного исследования в науке и практики.**

Предложенные в работе подход к валидации методик по некоторым параметрам в отсутствие стандартного образца целевого соединения и разработанный алгоритм лабораторной диагностики отравлений психоактивными компонентами мухоморов и могут быть рекомендованы для дальнейшего применения судебно-химической и химико-токсикологической практике.

## **Заключение**

В диссертации решена важная научная задача, состоящая в разработке и валидации методик обнаружения в биологических объектах психоактивных компонентов мухомора красного и мухомора пантерного для целей лабораторной диагностики отравлений.

Таким образом, учитывая все вышеизложенное, диссертационная работа Евдокимовой Екатерины Алексеевны на тему «Разработка методики лабораторной диагностики интоксикаций грибами рода *Amanita*: мухомором красным (*Amanita muscaria*) и мухомором пантерным (*Amanita pantherina*)» является завершенным квалификационным научным исследованием, выполненным на актуальную тему на достаточно высоком научном уровне, обладает научной новизной, теоретической и практической значимостью и соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 от № 101, от 18.03.2023 № 415, от 26.10.2023 № 1786, от 25.01.2024 № 62, от 16.10.2024 г. № 1382), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Евдокимова Екатерина Алексеевна, заслуживает

присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных, необходимых для работы диссертационного совета 21.2.063.01.

Официальный оппонент

доцент кафедры токсикологической химии  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Пермская государственная фармацевтическая  
академия» Министерства здравоохранения Российской  
Федерации, кандидат фармацевтических наук (3.4.2.  
фармацевтическая химия, фармакогнозия), доцент,

27 мая 2026 г.

Люст Елена  
Николаевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России)

Адрес (местонахождение): 614990, Российская Федерация, Пермский край, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2; телефон +7 (342) 233-55-01; E-mail perm@pfa.ru; официальный сайт pfa.ru

Юридический адрес: 614990, Российская Федерация, Пермский край, г. Пермь, ул. Екатерининская, д. 101

Телефон составителя отзыва: +7 (912) 986-7195

E-mail составителя отзыва: elenalyust@mail.ru

Подпись руки (должность, уч.степень, уч.звание, организация, ФИО) заверяю.

Уполномоченное лицо (ОК или ОД)

