

## «УТВЕРЖДАЮ»

Ректор федерального  
государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения

высшего образования

«Омский государственный  
медицинский университет»

Министерства здравоохранения  
Российской Федерации

д.м.н., профессор М.А. Ливзан

*Ливзан*



"06 "

*мая*

2020 г.

## ОТЗЫВ

*ведущей организацией на диссертационную работу Тютриной Веры Александровны «Совершенствование методов анализа фторсодержащих лекарственных средств», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в Диссертационный совет Д 999.140.03 при ФГБУН "Институт общей и экспериментальной биологии" Сибирского отделения Российской академии наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.*

### Актуальность выполненного исследования

Инфекционные заболевания по-прежнему остаются угрозой, являясь одной из основных причин смертности в развивающихся странах и серьезной проблемой для передовых стран. Несмотря на грандиозные успехи, достигнутые в лечении инфекционных заболеваний, потребность в создании новых антибактериальных и противовирусных препаратов, а также в разработке способов контроля их качества, чрезвычайно высока.

Офлоксацин, линезолид и эфавиренз входят в схемы лечения инфекционных заболеваний, следовательно, к их качеству предъявляются высочайшие требования, которые должны контролироваться с помощью современных методов, предложенных фармацевтической наукой.

Диссертантом был проанализирован большой объем источников и данных, научных публикаций отечественных и зарубежных ученых по теме диссертации, что позволило сделать вывод, что для количественного определения веществ исследуемой группы препаратов чаще всего используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Данный метод дает возможность разделить исследуемые вещества и определить их количественное содержание, однако он характеризуется рядом недостатков: высокая стоимость оборудования, хроматографических колонок, стандартных образцов производства USP.

Так как лечение инфекционно-воспалительных заболеваний не ограничивается назначением одного препарата, это может стать причиной развития побочных явлений и возникновения острых отравлений. В связи с частыми случаями острых и смертельных отравлений различными лекарственными препаратами, с каждым годом растут требования, предъявляемые к судебно-химическим исследованиям, поскольку расширяется список определяемых препаратов, увеличивается число отравлений комбинацией двух и нескольких лекарственных препаратов, повышаются требования к чувствительности методик, к избирательности. Все это требует разработки новых методик химико-токсикологического анализа, основывающихся на современных инструментальных методах исследования. Проведенный анализ литературы показал, что химико-токсикологический анализ веществ данной группы как при монотерапии, так и в комбинациях с другими лекарственными средствами в литературных источниках не представлен.

Таким образом, актуальность данного исследования, посвященного совершенствованию методов стандартизации и химико-токсикологического анализа фторсодержащих лекарственных средств – офлоксацина, линезолида и эфавиренза, не вызывает сомнений.

## **Научная новизна исследования и полученные результаты**

Тютриной В.А. в ходе эксперимента научно доказаны и установлены оптимальные условия спектрофотометрического анализа (оптимальные значения pH, оптимальный растворитель, аналитическая длина волны, уравнение градуировочного графика) офлоксацина, линезолида и эфавиренза в субстанциях и таблетированных лекарственных формах. Обоснован выбор оптических образцов сравнения – калия феррицианида и калия хромата для спектрофотометрического анализа исследуемых лекарственных средств. Впервые разработаны унифицированные методики спектрофотометрического определения данных фторсодержащих лекарственных средств с использованием оптических образцов сравнения, что позволяет усовершенствовать фармацевтический анализ. Оптимизированы условия ВЭЖХ анализа, на основании которых впервые разработаны методики количественного определения офорлоксацина, линезолида и эфавиренза методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в лекарственных формах на оборудовании отечественного производства.

Автором обоснованы унифицированные условия хроматографирования офорлоксацина, линезолида и эфавиренза в таблетированных лекарственных формах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием отечественного микроколоночного жидкостного хроматографа с УФ-детектором. На основании представленных условий разработаны методики разделения, идентификации и количественного определения их в комбинированных сочетаниях с лекарственными средствами других фармакологических групп в извлечениях из модельного образца мочи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Диссертантом исследовано влияние основных параметров (pH среды, природа органического растворителя, время и кратность экстракции, электролит), влияющих на экстракцию офорлоксацина, линезолида и

эфавиренза из модельных образцов мочи с использованием жидкость - жидкостной экстракции. Разработаны методики изолирования фторсодержащих лекарственных средств из модельного образца мочи.

Аргументирован выбор оптимальной системы растворителей «этилацетат–хлороформ–аммиака раствор концентрированный 25%» (17:2:1,5) и разработана методика их разделения и идентификации при совместном присутствии с амитриптилином, дифенгидрамином, имипрамином, морфином, прокайном, рифампицином и фенобарбиталом в извлечениях из мочи методом тонкослойной хроматографии.

### **Практическая значимость**

По результатам исследований представлено: 12 методик количественного определения офлоксацина, линезолида и эфавиренза в субстанциях и таблетках, покрытых оболочкой, спектрофотометрическим методом с использованием в качестве оптических образцов сравнения калия феррицианида и калия хромата; 3 методики количественного определения офлоксацина, линезолида и эфавиренза в таблетках, покрытых оболочкой, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии; 3 методики изолирования офлоксацина, линезолида и эфавиренза из модельных образцов мочи методом жидкость - жидкостной экстракции; методики качественного определения комбинированных сочетаний офлоксацина, линезолида и эфавиренза с амитриптилином, дифенгидрамином, имипрамином, морфином, прокайном, рифампицином и фенобарбиталом в извлечениях из модельных образцов мочи методами тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Разработаны методические рекомендации «Методика судебно-химического анализа офлоксацина, линезолида и эфавиренза в моче» и «Методика химико-токсикологического и судебно - химического анализа офлоксацина, линезолида и эфавиренза в вещественных доказательствах небиологического происхождения», утвержденные Российской центром судебно-медицинской экспертизы МЗ РФ.

Разработанные методики апробированы и внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, в практику работы судебно-химического отделения ГБУЗ «Иркутское областное бюро судебно-медицинской экспертизы» (г. Иркутск), ГБУЗ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы» республики Бурятия (г. Улан-Удэ). Получено 20 актов аprobации и внедрения разработанных методик. Получен Патент РФ на изобретение «Способ определения и обнаружения в моче фторсодержащих лекарственных средств в комбинированных сочетаниях». На исследуемые лекарственные препараты предложены проекты изменений ФСП с внесением разработанных методик в показатели «Количественное определение».

### **Структура и оформление диссертации**

Структура, последовательность изложения работы и содержание глав соответствуют общей цели и задачам диссертационного исследования. Диссертационная работа изложена на 187 страницах компьютерного текста и иллюстрирована 68 таблицами и 44 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (главы 2-5), общих выводов, списка литературы, приложения. Список литературы содержит 148 источника, из них – 30 отечественных и 118 зарубежных. В приложение включены проекты изменений ФСП на субстанции и таблетки, покрытые оболочкой офлоксацина, линезолида и эфавиренза с внесением разработанных методик в показатели «Количественное определение», а также материалы по внедрению и аprobации разработанных методик.

*Во введении* обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи исследования, определена научная новизна, теоретическая и практическая значимость данной работы.

*Первая глава* представляет собой критический обзор отечественной и зарубежной литературы, нормативных документов, касающихся

использования химических и физико-химических методов для количественного определения офлоксацина, линезолида и эфавиренза в субстанциях и лекарственных формах, а также методы обнаружения офлоксацина, линезолида и эфавиренза и лекарственных средств других фармакологических групп в биологических объектах при химико-токсикологических исследованиях. Автором сделан вывод, что анализ исследуемой группы препаратов в субстанциях, лекарственных формах и биологическом материале в ходе фармацевтического и химико-токсикологического анализа требует разработки новых и совершенствования существующих методик. На основании критического обзора научной литературы диссертантом сформулирована цель и задачи исследования.

*Во второй главе* представлены объекты и методы исследований, используемые в диссертации. В работе использован комплекс современных аналитических и математических методов: УФ - спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, электрохимические (рН-метрия) методы и статистические методы обработки экспериментальных данных.

*В третьей главе* обоснованы условия спектрофотометрического определения фторсодержащих лекарственных средств – офлоксацина, линезолида и эфавиренза, выбраны оптимальные оптические образцы сравнения (калия феррицианид и калия хромат) и разработаны методики количественного определения их в субстанциях и лекарственных формах. Относительная ошибка определения не превышает 1,28% – для таблеток, 0,88% – для субстанций.

Обоснованы условия количественного определения исследуемой группы веществ в лекарственных формах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием отечественного микроколоночного жидкостного хроматографа «Милихром А-02».

Представлены результаты валидационной оценки разработанных методик.

**Четвертая глава** посвящена изучению факторов, влияющих на экстракцию офлоксацина, линезолида и эфавиренза из растворов.

Разработаны методики изолирования офлоксацина, линезолида и эфавиренза из модельного образца мочи с использованием жидкость - жидкостной экстракции.

**В пятой главе** установлены оптимальные хроматографические системы растворителей для идентификации исследуемых веществ в сочетании с другими лекарственными средствами. Определены условия разделения и обнаружения офлоксацина, линезолида и эфавиренза в сочетании с другими лекарственными средствами методом хроматографии в тонком слое сорбента в извлечениях из модельных образцов мочи. Обоснованы условия хроматографического разделения и разработаны методики идентификации комбинированных сочетаний офлоксацина, линезолида и эфавиренза с лекарственными средствами других фармакологических групп в извлечениях из модельных образцов мочи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Испытания проводили на отечественном микроколоночном хроматографе «Милихром А-02» с использованием хроматографической колонки ( $75 \times 2$  мм). Неподвижная фаза: полимерный сорбент ProntoSIL-120-5-C18 AQ. Подвижная фаза: Элюент А: лития перхлората раствор 0,2 М – хлорной кислоты раствор 0,005 М (рН 2,8); Элюент Б – ацетонитрил. Градиентный режим элюирования: 3700 мкл 5% - 70% Б (0-35 мин). Скорость потока подвижной фазы – 100 мкл/мин. Температура термостата хроматографической колонки – 40°C. Погрешность определения не более 0,07 %. Диссертационная работа завершается общими выводами, в которых обобщены основные результаты исследования.

## **Степень обоснованности и достоверности заключений и выводов, сформулированных в диссертации**

Приведенные диссидентом выводы достоверны и обоснованы обширным экспериментальным материалом с привлечением современных методов исследований и адекватными приемами статистической обработки полученных результатов; полностью отвечают цели и задачам исследования.

Апробация работы выполнена в виде докладов на международных, всероссийских и региональных конференциях, по результатам диссертационной работы опубликованы 20 работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, и получен 1 Патент РФ на изобретение.

### **Вопросы и замечания**

В целом, диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне, представленный материал изложен последовательно, логично и грамотно.

В процессе рецензирования диссертации возникли некоторые вопросы и замечания, требующие дополнительного уточнения и пояснения:

1. В течение какого времени предлагаемые вами растворы оптических образцов сравнения пригодны после изготовления?
2. Проводили ли вы сравнительный анализ количественного определения офлоксацина, линезолида и эфавиренза, производимых различными заводами-изготовителями?
3. На первом этапе работы до разделения офлоксацина и линезолида были получены коэффициенты асимметрии, длины волн максимального и минимального поглощения, спектральные отношения для офлоксацина, линезолида и эфавиренза при градиентном режиме элюирования 3700 мкл 5% - 70% Б. Будут ли эти показатели меняться после изменения формы градиента на 550 мкл 27% Б; 550 мкл от 27% до

100% Б; 900 мкл 100% Б, который вы подобрали для разделения данной пары веществ?

4. Откуда получена информация, что именно 0,2 г, 1,0 г и 2,0 г для исследуемых веществ являются терапевтической, токсической и летальной дозами?

5. Возможно ли, используя разработанные вами методики количественного определения офлоксацина, линезолида и эфавиренза в моче, проводить их количественное определение в других биологических жидкостях и органах?

Указанные замечания и предложения не носят принципиального характера и не снижают теоретическую и практическую значимость выполненной диссертационной работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Тютриной В.А. "Совершенствование методов анализа фторсодержащих лекарственных средств" является самостоятельно выполненной и законченной научно-квалификационной работой, в которой разработаны и предложены спектрофотометрические и хроматографические методы анализа указанной группы препаратов, имеющие преимущество по сравнению с методами, представленными в нормативных документах.

В целом, диссертационная работа Тютриной В.А. по актуальности, объёму исследований, научно-методическому уровню, теоретической и практической значимости соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г.), а ее автор Тютрина Вера Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв на диссертационную работу обсужден на заседании кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Протокол № 9 от "4" мая 2020 г.)

Заведующий кафедрой фармацевтической, аналитической и токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кандидат фармацевтических наук (15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия), доцент

Елена Александровна Лукша

644099, Россия, г. Омск  
ул. Ленина, 12  
тел: 8(3812) 957-008  
e-mail: rector@omsk-osma.ru  
<http://www.omsk-osma.ru>

