

ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе Ставрианиди Андрея Николаевича, *«Новые подходы к идентификации физиологически активных компонентов женьшеня и их определение в растительном сырье и продуктах на его основе»*, представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02- аналитическая химия.

Диссертация А.Н. Ставрианиди посвящена разработке новых подходов к идентификации и определению физиологически активных компонентов женьшеня - гинсенозидов (женьшеневые сапонины). В настоящее время известно около 620 гинсенозидов, содержащихся в женьшене. С развитием и усовершенствованием приборной базы, основным методом исследования качественного и количественного состава женьшеня стал метод ВЭЖХ в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием. С помощью этого метода установлены структуры гинсенозидов, проведено изучение их фармакокинетики и метаболомики. Тем не менее, многие исследователи отмечают недостаток качественных электронных библиотек и баз данных, содержащих информацию о масс-спектрометрическом поведении сапонинов. Еще одной проблемой является недостаточное количество стандартных образцов гинсенозидов. Поэтому тема рецензируемой диссертационной работы, безусловно, актуальна.

Диссертации предшествует подробный и хорошо систематизированный обзор литературы по гинсенозидам и методам их определения. В корнях женьшеня идентифицировано большое количество тритерпеновых сапонинов. Как следует из литературного обзора, некоторые из этих соединений чрезвычайно важны, например R_c обладает антигликемической активностью, R_f и R_{g1} используются для идентификации наиболее ценного китайского женьшеня *Panax ginseng*. Суммирована информация по способам традиционной обработки корней женьшеня и существующим подходам извлечения и пробоподготовки, применяемых в фармацевтике, а также для проведения анализа этих объектов. Автор отмечает, что во время обработки паром корня женьшеня, происходит частичное или полное разложение гинсенозидов. Это усложняет их определение.

Систематизированы данные о современных способах определения гинсенозидов в женьшене, которые основаны на методах газовой и жидкостной

хроматографии. Для газохроматографического определения женьшеневых сапонинов необходим гидролиз перед триметилсилилированием, что усложняет анализ. Поэтому сейчас наибольшей популярностью пользуются различные варианты ВЭЖХ. Диссертант подробно рассматривает мицеллярную электрокинетическую хроматографию, различные варианты детектирования гинсенозидов: спектрофотометрическое, флуориметрическое, детектирование заряженных частиц в аэрозоле (ЗЧАД) и другие. Из литературного обзора следует, что наиболее перспективным и информативным является *метод ВЭЖХ в сочетании с МС/МС-детектированием*. Используя этот метод, автор разработал *новые способы* обнаружения и групповой идентификации гинсенозидов.

Автором изучено поведение гинсенозидов в 2 режимах выбранных ионных переходов и в режиме сканирования на линейной ионной ловушке. Сначала изучено масс-спектрометрическое поведение основных гинсенозидов Rg1, Re, Rf, Rb1, Rc, Rd, RT5 и F11 в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов, показано что происходит образование аддуктов с водой и депротонированных молекул. Автором предложено оригинальное решение – в режиме выбранных ионных переходов и регистрации положительных ионов проводить определение хроматографически не разделяемых псевдогинсенозидов F11 и RT5.

Большое значение в работе уделено оптимизации условий разделения и детектирования в режиме сканирования на линейной ионной ловушке 17 гинсенозидов. Подобраны оптимальные величины входного потенциала, энергии соударений и потенциала декластеризации. Впервые достигнуто высокоселективное разделение и определение выбранных аналитов с пределами обнаружения 1-10 нг/мл.

В четвертой главе автор разработал оригинальный алгоритм интерпретации масс-спектров (режим сканирования на ионной ловушке), позволяющий проводить идентификацию гинсенозидов по их масс-спектрам и фрагментарным ионам. Показано, что масс-спектр целесообразно разбить на 3 области. В первой расположены молекулярные ионы и аддукты с Na и K, а также сигналы фрагментарных ионов после отщепления сахаристых остатков. Вторая часть содержит ионы сапогенина. В третьей области с небольшими значениями m/z , присутствуют обнаруживаются важные для интерпретации сигналы моносахаров.

Пятая глава содержит примеры практического применения разработанных подходов к идентификации и определению гинсенозидов. Особого внимания заслуживает разработанная автором методика препаративного выделения и идентификации гинсенозидов в женьшеневом чае. С помощью методов ЯМР и ВЭЖХ/МС/МС идентифицированы неизвестные компоненты чая Улун. Полученные результаты определяют перспективу продолжения данной работы. В будущем чрезвычайно интересным является идентификация, выделение новых соединений из женьшеня и дальнейшее изучение их фармакологических свойств.

Работа диссертанта несомненно является актуальной и важной, как для идентификации и количественного определения гинсенозидов в женьшене, так и для развития метода ВЭЖХ/МС/МС в России.

Серьёзных замечаний по диссертации оппонент не имеет. Из незначительных замечаний по экспериментальной части работы можно сделать следующие:

1. В литературном обзоре на с. 41 упоминаются препараты Shenmai и отвар Sijunzi, на с. 52 капсулы Ginsana G115. Проверил ли диссертант наличие статей на эти препараты в различных фармакопеях, например, Китайской?
2. На рис. 26 диссертации приведены хроматограммы разделения 2-х смесей, содержащих 9 и 8 гинсенозидов соответственно. В тексте автореферата заявляется, что разделена смесь 17 аналитов (рис. 4). Как автор это объясняет? В чем новизна такого разделения, если достигается разделение 39 гинсенозидов (с. 41 Литературного обзора)?
3. Уменьшить количество сокращений за счет необязательных и редко используемых в тексте, например: моноклональное антитело (МКАТ), детектирование заряженных частиц в аэрозоле (ЗЧАД), октиллол (ОТ), олеаноловая кислота (ОАК).

В целом работа написана хорошим литературным и химически грамотным языком. Диссертационная работа А.Н. Ставрианиди представляет собой обширный научный труд с явно полезными для практики результатами, выполненный на высоком научном и экспериментальном уровне.

Исходя из вышеизложенного можно заключить, что диссертация Ставрианиди А.Н. «Новые подходы к обнаружению физиологически активных компонентов женьшеня методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научном уровне, отвечает паспорту специальности 02.00.02 – Аналитическая химия и соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а её автор, Ставрианиди Андрей Николаевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Научный руководитель НИОКР
ООО «Технология лекарств», к.х.н.



М.Г. Чернобровкин

И.к. Ирина Карпов
КУЗНЕЦОВА И.В. *И.В.*