

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Ставрианиди Андрея Николаевича
**«Новые подходы к идентификации физиологически активных
компонентов женьшеня и их определения в растительном сырье и
продуктах на его основе»,**

представляемую на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.02 — аналитическая химия

Актуальность поставленной и решаемой в диссертационной работе Ставрианиди А.Н. задачи не вызывает сомнений. Гинсенозиды - физиологически активные компоненты, входящие в состав образцов женьшеня и определяющие его свойства. Изучение влияния гинсенозидов на живые организмы зависит в существенной степени от развития методов выделения, разделения и их идентификации в различных объектах. Для их количественной оценки необходимы высококачественные специализированные библиотеки и наличие стандартных образцов. Безэталонный анализ смесей гинсенозидов трудновыполним из-за большого количества изомерных структур. Таким образом, развитие методов групповой идентификации и определения этих веществ для получения информации о составе женьшеневого растительного сырья и продуктов на его основе представляется перспективной аналитической задачей.

Изложению собственных экспериментальных данных предшествует обстоятельный литературный обзор, в котором рассмотрены такие вопросы, как свойства, строение и способы извлечения гинсенозидов из содержащего их растительного сырья; физико-химические методы определения этих биологически активных аналитов (ТСХ, ГХ, МЭКХ, ВЭЖХ/МС, ИФА); особое внимание уделено групповой идентификации, метаболизму гинсенозидов и определению метаболических профилей.

Для решения поставленной задачи диссертанту необходимо было разработать способ определения гинсенозидов при их совместном присутствии методом ВЭЖХ-МС/МС, оптимизировать условия масс-спектрометрического детектирования и хроматографического разделения, оценить метрологические характеристики и апробировать разработанную методику при анализе реальных образцов. Со всеми задачами диссертант успешно справился.

При разработке процедуры пробоподготовки и выборе условий хромато-масс-спектрометрического анализа диссертанту пришлось учесть, что исследуемые аналиты – органические соединения средней полярности, не проявляющие ярко выраженных кислотно-основных свойств; их гидроксильные группы способны к депротонированию; при нагревании они склонны к разложению; в процессе экстракции, обработки и хранения гинсенозидов происходит изменение их структуры и концентрации. Отмечено, что в случае гинсенозидов, проявляющих слабые кислотные свойства, целесообразно использование сильно кислых подвижных фаз, что позволяет перевести аналиты в форму протонированных молекул или аддуктов с находящимися в растворе катионами металлов.

В диссертационной работе изучены процессы ионизации и характер фрагментации исследуемой группы веществ в условиях ВЭЖХ-МС/МС. Предложены способы детектирования гинсенозидов в режиме регистрации выбранных ионных переходов. Альтернативой режиму регистрации выбранных ионных переходов служит сканирование с использованием линейной ионной ловушки (ЛИЛ) тройного квадрупольного масс-анализатора. Автор справедливо отмечает, что для сопоставления чувствительности определения данных соединений по сумме интенсивностей выбранных сигналов в водных растворах в режиме сканирования с использованием ЛИЛ и в режиме селективной регистрации тех же выбранных сигналов можно использовать полученные значения пределов обнаружения, а не коэффициенты чувствительности из-за разных условий получения аналитического сигнала в данных режимах.

Несомненной заслугой диссертанта является предложенная система классификации по паттернам фрагментации ППТ, ППД и ОТ сапогенина при использовании тестового набора масс-спектрометрических данных 17 стандартных гинсенозидов и масс-спектров тех же гинсенозидов, обнаруженных в экстрактах, что позволило корректно классифицировать ППТ, ППД и ОТ гинсенозиды. Установлено, что отношение интенсивностей сигналов протонированной молекулы гинсенозида и его натриевого аддукта – еще один значимый параметр, особенно в случае псевдогинсенозидов. Показано, что во избежании ложной идентификации на окончательном этапе следует проводить сравнение паттернов фрагментации сапогенинов (во второй и третьей областях масс-спектра).

Научная новизна. На примере группы гинсенозидов выявлены процессы формирования масс-спектров в гибридной системе с тройным квадрупольным масс-анализатором, работающем в режиме тандемного соединения первого и второго квадрупольей с линейной ионной ловушкой.

Выявлены значимые признаки, которые могут быть использованы для классификации неизвестных компонентов на основе совпадения паттернов фрагментации с установленными для нескольких подгрупп женьшеневых сапонинов с различным типом сапогенина.

Установлены закономерности, связывающие структуру аналита со значениями m/z и относительной интенсивностью сигналов на масс-спектрах в условиях ионизации электрораспылением (ИЭР). Предложен селективный способ определения псевдогинсенозидов F11 и RT5 в присутствии других женьшеневых сапонинов с использованием МС детектирования в режиме регистрации выбранных ионных переходов и проведена проверка работоспособности предлагаемого способа на образцах сухого и свежего корня *P. ginseng*, а также экстрактах и продуктах на основе женьшеня.

Практическая значимость. Предложен способ пробоподготовки различных образцов растительных материалов и коммерческих продуктов, содержащих женьшень, обеспечивающий эффективное и неразрушающие

извлечение гинсенозидов. Применение МС методов для группового анализа позволило успешно обнаружить не только основные компоненты, но и следовые количества менее распространенных гинсенозидов.

Применение разработанного подхода позволило впервые установить структуры гинсенозидов в составе женьшеневого чая (улуна).

По работе возникли вопросы и замечания:

- Достаточно ли информации о 17 изученных стандартных гинсенозидов для обнаружения любых гинсенозидов, которых известно более 600, в природных объектах ?

- Проводился ли независимо скрининговый поиск по библиотекам?

- Остается непонятным, каковы реальные степени извлечения гинсенозидов? Менялся ли их состав в процессе экстракции?

- Обнаруживалось ли влияние матрицы образца (матричный эффект) при хроматомасс-спектрометрическом определении гинсенозидов?

Есть замечания оформительского характера: опечатки на стр.2, 5, 10,13, 17,22, 38, 46. 56, 83 и др.; ссылка на рис.4 (автореферат), по-видимому, ошибочна; представленные в диссертации хроматограммы не содержат указаний на условия хроматографического анализа; есть неудачные выражения: *...в МЭКХ состав подвижной фазы может быть обращен...*, *длина миграции аналитов* (стр.25), *...35 мин, что быстрее 65 мин.*

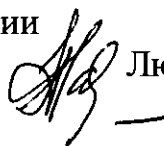
Высказанные замечания не повлияли на общую очень высокую оценку диссертационного исследования. Разработанные подходы групповой ВЭЖХ-МС/МС идентификации этих веществ являются ценным источником информации, позволяющим расширить круг определяемых компонентов пищевых продуктов и лекарственных средств на основе женьшеня.

По материалам диссертации опубликовано 5 статей в российских и зарубежных журналах и 6 тезисов докладов. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Диссертационная работа Ставрианиди А. Н. по объему экспериментальной работы, научной новизне и практической значимости отвечает всем требованиям, предъявляемым ВАК

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.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Институт химии СПбГУ

Профессор кафедры органической химии
доктор химических наук, профессор



Людмила Алексеевна Карцова

Почтовый адрес: 198504, Санкт-Петербург, Петродворец, Университетский проспект 26.

Телефон: 8(812)-428-40-44

Электронная почта: kartsova@gmail.com

