

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Веницкой Елены Александровны «Идентификация и хроматографическое определение фитокомпонентов фенольной природы в экстрактах некоторых лекарственных растений семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*)», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2. – Аналитическая химия.

Лекарственное растительное сырье (ЛРС) является источником многих физиологически-активных соединений, в том числе фенольной природы. Для того чтобы оценить химический состав этих соединений в исследуемом ЛРС и продуктах на его основе, а, следовательно, и потенциал их использования, необходимо применять современные высокоинформативные методы анализа сложных смесей, такие как ВЭЖХ-ДМД-МС и ГХ-МС. В связи с этим диссертационная работа Е.А. Веницкой, посвященная извлечению и исследованию состава фенольных соединений (ФС) растительного происхождения, является важной и **актуальной**.

Диссертационная работа изложена на 174 страницах машинописного текста, содержит 36 таблиц и 45 рисунков, состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения результатов, общих выводов, списка цитируемой литературы из 202 наименований и двух приложений с УФ и МС спектрами определяемых соединений. По материалам диссертации опубликованы 10 статей в рецензируемых журналах и 10 тезисов докладов.

В первой главе систематизированы данные о структуре и способах извлечения и определения ФС. Обсуждаются методы жидкостной и твердофазной экстракции ФС из ЛРС. Рассмотрено влияние таких параметров как температура, растворитель, продолжительность и способ экстракции на извлечение ФС из твердых (измельченных) растительных материалов. Перечислены основные виды сорбционных материалов для извлечения ФС. Описан метод построения выходной динамической кривой сорбции (ВДКС) для описания сорбционных характеристик материалов для твердофазной экстракции ФС.

Рассмотрены основные аспекты применения методов ВЭЖХ-ДМД и ВЭЖХ-МС для определения фенольных и сопутствующих компонентов растительных

экстрактов, а также другие методы анализа, подходящие для определения ФС, а именно методы реакционной газовой хроматографии в сочетании с МС детектированием. Указаны преимущества масс-спектрометрических методов исследования для одновременного обнаружения и идентификации фенольных соединений на низких уровнях содержаний.

В литературном обзоре соискательница справедливо указывает на тот факт, что в подавляющем большинстве работ способы извлечения используют выборочно (один сорбент или одна система для экстракции), и концентрируют внимание на описании состава и лекарственного потенциала экстрактов. Работ, посвященных систематическому сравнению сорбентов/экстрагентов достаточно мало. Тем не менее были отдельно разобраны работы, посвященные извлечению и определению ФС из отдельных растительных материалов: зверобоя продырявленного, эхинацеи пурпурной, клевера лугового

Во второй главе – Экспериментальной части – традиционно приведены сведения об использованных в работе реактивах, оборудовании, режимах работы. Подробно описаны способы выделения ФС из растительных материалов. Описана процедура экстракции и десорбции компонентов растений в субкритических условиях. Приведены хроматограммы экстрактов из исследованных растительных материалов, а также условия проведения ВЭЖХ-ДМД-МС и ГХ-МС анализа, а также характеристики сорбентов и реагентов для проведения предварительной аналитической дериватизации. В виде таблицы представлены метрологические характеристики разработанных методик определения ФС.

В первых трех параграфах третьей главы рассмотрены разные способы извлечения ФС из твердых растительных матриц. Последовательно выбраны оптимальные соотношения растворителей, температура и продолжительность для извлечения компонентов эхинацеи пурпурной, клевера лугового, зверобоя продырявленного. Показаны преимущества и недостатки микроволновой, ультразвуковой и субкритической экстракций в сравнении с фармакопейным методом экстракции кипящим растворителем. Описано влияние географических и морфологических факторов на содержание ФС, на примере водно-спиртовых экстрактов эхинацеи пурпурной и клевера лугового, соответственно. Для растительного сырья эхинацеи был предложен новый показатель качества и

подлинности – соотношение концентраций цикориевой кислоты к кафтаровой кислоте, значение которого было близко к 3.0 для исследованных образцов от разных производителей.

В четвертом параграфе третьей главы на примере водных и водно-спиртовых экстрактов зверобоя продырявленного всесторонне рассмотрены различные аспекты твердофазной экстракции и десорбции ФС на разных типах сорбентов. Были оценены коэффициенты концентрирования и степени извлечения разных групп ФС на углеродных, полимерных и силикагелевых сорбентах. Для углеродных сорбентов дополнительно была исследована возможность десорбции в субкритических условиях. Для сравнения актуальных сорбционных характеристик и сравнения разных сорбентов между собой была использована оригинальная методология построения ВДКС непосредственно для растительных экстрактов, поскольку приготовление модельных растворов, близких к ним по характеристикам и составу является очень трудоемкой задачей. В качестве основных характеристик сорбентов использовали объем «до проскока» и динамическую емкость. Показаны лучшая эффективность сорбента на основе октадецилсиликагеля для извлечения группы флавоноидов и их гликозидов. Флороглюцинолов, нафтодиантроны и фенольные кислоты лучше извлекались полимерными материалами Strata X и Oasis HLB, а углеродный сорбент Supelclean ENVI-Carb продемонстрировал хорошую стабильность и универсальность при извлечении разных групп ФС.

В заключительном пятом параграфе третьей главы диссертации рассмотрена возможность совмещения процедуры твердофазной экстракции и аналитической дериватизации аналитов для их последующего определения методом ГХ-МС. После оптимизации температуры и продолжительности проведения дериватизации, сравнивали эффективность проведения дериватизации в растворе и при нанесении на сорбент водных экстрактов при разных значениях pH. Предложенный подход проведения дериватизации в патроне для ТФЭ представляется перспективным, поскольку круг идентифицируемых на ГХ-МС хроматограммах соединений может быть увеличен, благодаря эффекту концентрирования.

Таким образом, автором установлены основные сорбционные характеристики сорбентов различной природы для твердофазной экстракции ФС из водных и водно-спиртовых экстрактов изученных лекарственных растений.

Предложены условия извлечения ФС из твердых растительных материалов. А также разработаны методики идентификации и хроматографического определения ФС в водных и водно-спиртовых экстрактах ЛРС семейств Зверобойные (зверобой продырявленный), Астровые (эхинацея пурпурная) и Бобовые (клевер луговой). Все это составляет **научную новизну** диссертационной работы.

Практическая значимость работы оптимизаций условий извлечения компонентов фенольной природы с помощью ультразвуковой, микроволновой и субкритической экстракции, а также очистки и концентрирования полученных экстрактов путем твердофазной экстракции с применением сорбентов различной природы. Оценена стабильность предложенного показателя качества и подлинности ЛРС семейства Астровые, в зависимости от условий проведения экстракции.

Достоверность полученных данных подтверждена большим объемом полученных результатов с использованием современного оборудования, в том числе масс-спектрометрического детектирования. Работа написана хорошим научным языком, хорошо структурирована и оформлена.

К приведенному в диссертационной работе материалу имеется несколько замечаний:

1. В тексте экспериментальной части повторяются (почти на 3 стр) однотипные описания приготовления исходных стандартных растворов и «основных» растворов. В этих описаниях отличаются навески и растворители, однако сам выбор растворителей ничем не объясняется. Кроме того, отсутствует необходимое описание эксперимента по твердофазной дериватизации ФС, а также отсутствует информация о подготовке экстрактов к анализу методом ВЭЖХ, сушили ли экстракты после элюирования с патронов в токе азота или разбавляли подвижной фазой?

2. Данные, представленные в таблицах 14 и 16, сопоставляют с полученными другими авторами, что идет в разрез с провозглашенным самим автором в начале обсуждения результатов тезисом о том, что «оценку эффективности способов извлечения ФС сложно проводить в силу неидентичных условий анализа, неполной информации об условиях экстракции». Так, в случае экстракции изофлавоноидов сравнение данных из таблиц 3 и 14 приводит к ложному выводу о большем

сродстве аналитов к метанолу, что не подтверждается данными, полученными в одинаковых условиях самим автором (Рис. 14).

3. При определении и сравнении сорбционных характеристик разных исследованных сорбентов использованы, по-видимому, одинаковые объемы одних и тех же экстрактов из растительного сырья. Тем не менее, при построении кривых ВДКС и определении объема «до проскока» следует указывать примерную концентрацию действующих веществ в экстракте, или соотношение экстракт : растительный материал, поскольку этот параметр, в отличие от динамической емкости напрямую зависит от «насыщенности» экстракта. Также, в некоторых частях работы (таблицы 25 и 32) не указано, является ли коэффициент K , при котором рассчитаны степени извлечения, предельно достижимым для данного типа сорбента. Следует отметить, что степени извлечения, полученные при предельных значения K могут быть сильно занижены, а их оптимизация осложнена из-за большой погрешности результатов, обусловленной близостью к превышению емкости сорбента.

4. Несмотря на то, что работа очень аккуратно оформлена и практически свободна от опечаток, в тексте, в особенности в литературном обзоре, присутствует большое количество несогласованных предложений.

Приведенные выше замечания не носят принципиальный характер и не снижают общую положительную оценку представленной работы.

Автореферат диссертации и публикации автора в достаточной мере отражают содержание диссертации.

Диссертационная работа Венициной Елены Александровны «Идентификация и хроматографическое определение фитокомпонентов фенольной природы в экстрактах некоторых лекарственных растений семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*)» по объему выполненных исследований, новизне полученных результатов и практической значимости соответствует требованиям п. 9 "Положения о присуждении ученых степеней", утвержденного Постановлением Правительства РФ N 842 от 24 сентября 2013 г. "О порядке присуждения ученых степеней", предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения

ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2. -
Аналитическая химия.

Кандидат химических наук
(02.00.02 – Аналитическая химия),
доцент кафедры аналитической химии
химического факультета МГУ
имени М.В.Ломоносова
Ставрианиди Андрей Николаевич

А.Н. Ставрианиди

Почтовый адрес 119991, Москва, Ленинские горы, дом 1, строение 3,
ГСП-1, МГУ, химический факультет, кафедра
аналитической химии
Телефон: +7 (495) 939-22-77
e-mail: stavrianiidi.andrey@analyt.chem.msu.ru

29.09.2022

Подпись Ставрианиди А.Н. удостоверяю.

Декан химического факультета МГУ
имени М.В.Ломоносова, академик РАН
профессор




С.Н. Калмыков