

## РЕЦЕНЗІЯ

доцента закладу вищої освіти кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету, кандидата фармацевтичних наук, Демешко Ольги Володимирівни на дисертаційну роботу Маслова Олександра Юрійовича «Фітохімічне вивчення та стандартизація лікарських засобів антиоксидантної дії з листя зеленого чаю», подану до спеціалізованої вченої ради ДФ 64.605.048 при Національному фармацевтичному університеті для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

**Актуальність теми дисертації.** Організм людини щодня зазнає негативного впливу екзогенними факторами навколишнього середовища, які ініціюють прояви оксидантного стресу. Відбувається мутація білків, нуклеїнових кислот, виникає перекисне окислення ліпідів та інше. Науковці різних країн світу досліджують ЛРС, яка проявляє антиоксидантні властивості та впливає на оксидантний стрес. Найбільш відомим антиоксидантним засобом вважається чай. Зелений чай має високий вміст поліфенольних речовин і проявляє високі антиоксидантні, антиканцерогенні, детоксикаційні, антибактеріальні та діуретичні властивості. Концентрація та накопичення поліфенольних речовин у листях чаю є найважливішим критерієм його якості. Тому дисертаційна робота Маслова О.Ю. присвячена фітохімічному вивченню листя зеленого чаю та розробці методів аналізу лікарських засобів з антиоксидантною дією, створених на їх основі.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами грантами.** Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної науково – дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше розроблена і валідована потенціометрична методика визначення антиоксидантної активності епігалокатехіну 3-О-галлату, встановлено АОА максимально допустимої рекомендованої добової дози ЕГКГ, запропоновані терміни, що виражають рівень антиоксидантної активності.

Вперше за розробленими методиками визначено антиоксидантну активність та кількісний вміст катехінів у дієтичних добавках «Green Tea Extract» (Source Naturals, США, «Екстракт зеленого чаю» (Еліт-фарм, Україна), «Зелений чай» (Pharmacom, Україна), перевірена їх відповідність вимогам Фармакопеї США 38 щодо вмісту катехінів та вимогам ДФУ 2.3.

Вперше проведено стандартизацію сировини листя зеленого чаю відповідно вимог ЄФ 9.0.

Вперше розроблена потенціометрична методика кількісного визначення суми вільних органічних кислот у листі зеленого чаю, проведена її валідація.

Вперше були розроблені методики і визначена сумарна АОА для настоянок та настою з листя зеленого чаю. Розроблено параметри стандартизації рідкого екстракту з листя зеленого чаю та гранул на його основі.

Новизна досліджень підтверджена патентами України на корисну модель № 150496 від 23.02.2022 р. «Спосіб одержання засобу з антиоксидантною дією з листя зеленого чаю» та № 151690 від 01.09.2022 р. «Спосіб одержання гранул з екстрактом листя зеленого чаю з антиоксидантною дією».

**Практичне значення отриманих результатів.** За результатами досліджень розроблено проекти МКЯ на рідкий екстракт з листя зеленого чаю і гранули з екстрактом зеленого чаю, які передано для подальшого впровадження у виробництво в компанії ТОВ «ЗДРАВООФАРМ» (Україна).

Результати досліджень впроваджено у навчальний процес і науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету; кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»; кафедри

фармацевтичної і токсикологічної хімії, фармакогнозії та ботаніки Казахського Національного медичного університету ім. С.Д. Асфендіярова; кафедри аналітичної хімії Ташкентського фармацевтичного інституту.

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Разом з науковим керівником дисертантом Масловим О.Ю. визначено мету, завдання, методики експериментальних досліджень. Автором самостійно проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз даних літератури щодо хімічного складу, особливостей застосування листя зеленого чаю. Обґрунтовано доцільність визначення антиоксидантної активності потенціометричним методом. Досліджено вплив концентрації етанолу при визначенні рівня сумарної антиоксидантної активності. Розроблена потенціометрична методика визначення антиоксидантної активності епігалокатехін-3-О-галлату, проведена її валідація. Обрано епігалокатехін-3-О-галлат в якості стандарту, за найвищу здатність інактивувати вільні радикали. Встановлено АОА максимальної допустимої рекомендованої добової дози ЕГКГ (562 ммоль-екв./г) і дієтичних добавок «Green Tea Extract» (Source Naturals, США) –  $36,51 \pm 0,46$  ммоль/таб., «Екстракт зеленого чаю» (Еліт-фарм, Україна) –  $29,78 \pm 0,35$  ммоль/таб., «Зелений чай» (Pharmacom, Україна) –  $16,67 \pm 0,29$  ммоль/таб..

Проведено фітохімічний скринінг основних груп БАР листя зеленого чаю та досліджуємих дієтичних добавок, який показав наявність катехінів, флавоноїдів, алкалоїдів, гідроксикоричних та органічних кислот. Методом ТШХ ідентифіковані епікатехін, епігалокатехін-3-О-галлат, рутин, кофеїн, теобромін, хлорогенова, лимона, янтарна і оксалатна кислоти. Спектрофотометричним методом встановлено, що в листі зеленого чаю сумарний вміст фенольних сполук становить 24,12 %, катехінів – 20,79 %, флавоноїдів – 1,27 %, гідроксикоричних кислот – 0,67 % і кофеїну – 2,56 %. У листі зеленого чаю методом ВЕРХ ідентифіковано та визначено кількісний вміст 4 флавонолів (1,34 %), 3 флавононів (0,25 %), 2 флавонів (0,64 %), 4 фенілкарбонових кислот (1,39 %) і 5 домінуючих флаван-3-олів (20,56

%). Розроблена потенціометрична методика кількісного визначення суми вільних органічних кислот у листі зеленого чаю та проведена її валідація.

Проведено стандартизацію дієтичних добавок «Green Tea Extract» і «Екстракт зеленого чаю» згідно розробленій спектрофотометричній методиці, відповідно якій встановлено, що сумарний вміст катехинів у «Green Tea Extract» складає  $156,80 \pm 1,36$  мг, «Екстракті зеленого чаю» –  $89,00 \pm 0,88$  мг, «Зеленому чаї» –  $38,00 \pm 0,75$  мг. Вміст катехинів у досліджуваних дієтичні добавках за всіма критеріями відповідав вимогам ДФУ 2.3. та Фармакопеї США 38.

Розроблено параметри стандартизації рідкого екстракту листя зеленого чаю, запропоновано технологію одержання гранул з екстракту листя зеленого чаю та розроблено параметри її стандартизації.

Розроблена та стандартизована дієтична добавка «Кахінол» за вимогами ДФУ і параметром антиоксидантної активності.

Дисертація виконана на високому науковому рівні, результати достатньо опрацьовані та статистично оброблені. Висновки логічно обґрунтовані та достовірні. У дисертації не виявлено ознак академічного плагіату.

#### **Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах.**

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня. За матеріалами дисертації опубліковано 22 наукові роботи, у тому числі 5 статей у наукових виданнях України, 3 – у періодичних наукових виданнях, які включено до наукометричних баз Scopus та Web of Science, 12 тез доповідей та 2 патенти України на корисну модель.

Опубліковані результати досліджень повною мірою відображають зміст дисертаційної роботи.

**Аналіз основного змісту роботи, ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків.** Дисертаційна робота складається з анотацій, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, аналізу та обговорення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел, додатків. Дисертація викладена на 199

сторінках машинописного тексту. Обсяг основного тексту дисертації складає 141 сторінку друкованого тексту. Робота ілюстрована 37 таблицями та 33 рисунками. Список використаних джерел містить 227 найменувань, з яких 74 кирилицею і 153 латиною. Робота супроводжується рисунками та таблицями, що в достатній мірі ілюструє повноту проведених досліджень.

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, визначені мета та завдання, об'єкти, предмет та методи досліджень, наукова новизна отриманих результатів, їх практичне значення, особистий внесок здобувача, відображена апробація результатів дисертації, структура та обсяг дисертації.

**Перший розділ «Зелений чай, як джерело одержання дієтичних добавок з антиоксидантною дією»** присвячено огляду літературних джерел, які висвітлюють хімічний склад, фармакологічну дію листя зеленого чаю різних видів і сортів. Аналізу ринку дієтичних добавок на основі листя зеленого чаю. Розділ у повному обсязі демонструє основний напрямок досліджень дисертаційної роботи.

**Другий розділ «Об'єкти та методи досліджень»** базується на вивченні хімічних реакцій, хроматографії (ТШХ, ВЕРХ, ГХ/МС), спектрофотометрії, потенціометрії. Методи дослідження відповідають вимогам ДФУ. Детально описані об'єкти дослідження: листя зеленого чаю (*Camellia sinensis* L.) сорту Чун Мі, заготовлене у провінції Аньхой (Китай) у весняний сезон; етанольні екстракти, настій, настоянки і гранули з екстрактом листя зеленого чаю; придбані в аптечній мережі фірми «911» дієтичні добавки: «Green Tea» (Source Natural, США), що містить 100 мг сухого стандартизованого екстракту листя зеленого чаю; «Екстракт зеленого чаю» (Еліт-фарм, Україна), що містить 200 мг сухого стандартизованого екстракту листя зеленого чаю; «Зелений чай» (Pharmacom, Україна), що містить 31,25 мг сухого стандартизованого екстракту листя зеленого чаю та 17 мг аскорбінової кислоти. Наведена у розділі інформація може гарантувати отримання прийнятних результатів після проведення науково-дослідної роботи.

У третьому розділі «Розробка та валідація потенціометричної методики визначення антиоксидантної активності» дисертантом наводиться обґрунтування доцільності визначення антиоксидантної активності потенціометричним методом. Сформульовано основні критерії вибору електроліту для визначення антиоксидантної активності потенціометричним методом. Досліджується вплив концентрації етанолу при визначенні антиоксидантної активності. Розроблено та валідовано потенціометричну методику визначення антиоксидантної активності епігалокатехін-3-О-галлату. Проведено дослідження антиоксидантної активності дієтичних добавок з екстрактом зеленого чаю. Експериментальні дані даного розділу дуже вагомі та широко розпубліковані автором.

Четвертий розділ «Вивчення якісного складу та кількісного вмісту БАР в листі зеленого чаю та дієтичних добавках на його основі» присвячений стандартизації сировини листя зеленого чаю відповідно вимог ЄФ 9.0, проведенню фітохімічного скринінгу основних груп БАР сировини, ідентифікації методом ТШХ таких речовин, як епікатехін, епігалокатехін-3-О-галлат, рутин, кофеїн, хлорогенова, лимона, янтарна і оксалатна кислоти. Дієтичні добавки містили епігалокатехін-3-О-галлат і епікатехін, кофеїн - в слідових кількостях; флавоноїди та гідроксикоричні кислоти не визначено.

Спектрофотометричним методом встановлено сумарний вміст фенольних сполук у листі зеленого чаю – 24,12 %, катехінів – 20,79 %, флавоноїдів – 1,27 %, гідроксикоричних кислот – 0,67 % і кофеїну – 2,56 %.

Методом ВЕРХ ідентифіковано та визначено кількісний вміст у листі зеленого чаю 4 флавонолів (1,34 %), 3 флавононів (0,25 %), 2 флавонів (0,64 %), 4 фенілкарбонових кислот (1,39 %) і домінуючих флаван-3-олів (20,56 %).

Вперше була розроблена потенціометрична методика кількісного визначення суми вільних органічних кислот у листі зеленого чаю та проведена її валідація, встановлено сумарний вміст вільних органічних кислот - 1,83 %.

Вперше розроблена спектрофотометрична методика визначення кількісного вмісту катехинів у дієтичних добавках, за якою встановлено, що сумарний вміст катехинів у «Green Tea Extract» складає  $156,80 \pm 1,36$  мг, «Екстракті зеленого чаю» –  $89,00 \pm 0,88$  мг, «Зеленому чаї» –  $38,00 \pm 0,75$  мг. Дієтичні добавки «Green Tea Extract» і «Екстракт зеленого чаю» відповідають вимогам Фармакопеї США 38 щодо вмісту катехинів; три досліджені ДД за всіма критеріями відповідають вимогам ДФУ 2.3.

Автором вперше розроблена методика визначення сумарної антиоксидантної активності листя зеленого чаю. Встановлено, що максимальна сумарна антиоксидантна активність листя зеленого чаю, становить  $660,75$  ммоль-екв./мсух.зал..

За розробленою методикою вперше визначено антиоксидантну активність 96, 60, 40, 20 % етанольних настоянок і настою листя зеленого чаю. Настоянка на 60 % етанолі виявила найбільший рівень антиоксидантної активності ( $48,27 \pm 1,44$  ммоль/мсух. зал.).

Вагомі результати експериментальних досліджень четвертого розділу представлені у фахових наукових закордонних виданнях, що індексуються базою даних Scopus.

**Розділ п'ять «Стандартизація рідкого екстракту листя зеленого чаю та дієтичної добавки на його основі»** представлений чотирма підрозділами. Дисертантом наведено вперше розроблені параметри стандартизації рідкого екстракту листя зеленого чаю та представлено проект МКЯ «Екстракт зеленого чаю рідкий». Обґрунтовано склад і технологію одержання гранул з екстрактом листя зеленого чаю.

Розроблена дієтична добавка «Кахінол» та проведена її стандартизація за вимогами ДФУ і параметром антиоксидантної активності.

**Додатки** представлені актами впровадження результатів дослідження, проектами методів контролю якості і патентами України на корисну модель.

Слід зазначити, що всі представлені дослідження є оригінальними та виконані на високому науковому рівні. Висновки, зроблені автором, логічно впливають із представлених результатів експериментальних досліджень. Поставлені задачі для досягнення визначеної мети повністю вирішені. Основний зміст дисертації повністю опублікований у наукових фахових періодичних виданнях. Результати досліджень широко апробовані на науково-практичних заходах.

**Зауваження.** При загальній позитивній оцінці дисертаційної роботи варто висловити деякі зауваження та побажання:

1. Бажано було б вказувати вид сировини в розділах дисертаційної роботи.
2. Результати статистичної обробки вказувати до другого знаку.
3. У перелік умовних позначень додати розшифровку абрєвіатури «ХА» та «ВРК».
4. На загальновідомі методики, які не є власним дослідженням автора роботи тільки посилання.

Важливим є те, що наведені зауваження не знижують наукової та практичної цінності дисертаційних досліджень.

Під час проведення аналізу дисертаційної роботи виникли деякі дискусійні питання, на які хотілося б отримати відповідь:

1. Яким чином етиловий спирт впливає на визначення антиоксидантної активності потенціометричним методом?
2. Чому Ви визначали кількісний вміст органічних кислот у листі зеленого чаю у перерахунку на лимонну кислоту?

**Висновок.** Враховуючи актуальність, наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, слід зазначити, що дисертаційна робота Маслова Олександра Юрійовича на тему «Фітохімічне вивчення та стандартизація лікарських засобів антиоксидантної дії з листя зеленого чаю» є завершеною науковою працею, яка виконана з використанням сучасних методів аналізу. Основні результати, нові наукові положення та висновки, сформульовані у дисертації, повністю оприлюднені в наукових публікаціях, у роботі відсутні порушення академічної доброчесності.



З усього вищевикладеного можна зробити висновок про те, що дисертаційна робота «Фітохімічне вивчення та стандартизація лікарських засобів антиоксидантної дії з листя зеленого чаю» є закінченою науковою працею, в якій досягнута основна мета та вирішені задачі дослідження, і відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою КМУ від 12 січня 2022 року № 44, а її автор, Маслов Олександр Юрійович, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

*Рецензент*

доцент закладу вищої освіти кафедри  
фармакогнозії Національного  
фармацевтичного університету,  
кандидат фармацевтичних наук,  
доцент



Ольга ДЕМЕШКО

Підпис доц. Демешко О.В. засвідчую:

Провідний фахівець з питань кадрової  
Роботи Національного фармацевтичного  
університету



Віра ДВЕРНИЦЬКА