

## ВІДГУК

офіційного опонента, замісника декана фармацевтичного факультету ПВНЗ «Київський медичний університет», доктора фармацевтичних наук, професора

**Ільїної Тетяни Василівни** на дисертаційну роботу

**Маслова Олександра Юрійовича «Фітохімічне вивчення та стандартизація**

**лікарських засобів антиоксидантної дії з листя зеленого чаю»,** яка

представлена до захисту у спеціалізовану вчену раду 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.** Основною причиною розвитку багатьох патологічних станів людини є порушення балансу між антиоксидантною та прооксидантною системами організму. Для інактивації вільних радикалів застосовуються антиоксиданти. До таких сполук відносяться флавоноїди, в тому числі флаван-3-оли (катехіни), основним джерелом яких є листя зеленого чаю *Thea sinensis* L. (syn. *Camellia sinensis* L. Kuntze) родини чайні (*Theaceae*). Завдяки різноманітному хімічному складу листя зеленого чаю і продукти його переробки мають широкий спектр фармакологічної дії – протизапальну, антиканцерогенну, антипроліферативну, противірусну, кардіопротекторну, цукрознижувальну, остеопротекторну і високу антиоксидантну активність. Це дозволяє розглядати листя зеленого чаю як перспективну сировину для створення ефективних лікарських засобів різної направленості дії, що можуть застосовуватися для лікування гіпертонії, атеросклерозу, цукрового діабету II типу, онкологічних захворювань.

Аналіз українського фармацевтичного ринку показав, що частка вітчизняних фірм-виробників дієтичних добавок на основі біологічно активних

речовин (БАР) листя зеленого становить лише 16 %, тому розробка нових лікарських засобів і дієтичних добавок на їх основі є актуальною.

В Україні якість дієтичних добавок регламентується монографією Державної Фармакопеї «Дієтичні добавки» (ДФУ 2.3, 2014) та пізніше «Дієтичні добавки<sup>N</sup>» (ДФУ 2.4, 2020). За діючими вимогами проведення контролю якості дієтичних добавок відбувається за санітарно-епідеміологічним висновком, при цьому стандартизація за вмістом діючих речовин не потребується. Тому актуальним заданням є впровадження контролю якості дієтичних добавок як за технологічними параметрами, так і за наявністю та вмістом діючих речовин.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дисертаційна робота виконана відповідно до плану Проблемної комісії «Фармація» МОЗ і НАМН України та є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (№ державної реєстрації 0114U000946).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше за розробленою дисертантом і валідованою потенціометричною методикою встановлено антиоксидантну активність максимальної допустимої рекомендованої добової дози епігалокатехін-3-О-галату; запропоновані терміни, що виражають рівень антиоксидантної активності.

Вперше визначено рівень антиоксидантної активності та кількісний вміст катехинів у дієтичних добавках «Green Tea Extract» (Source Naturals, США, «Екстракт зеленого чаю» (Еліт-фарм, Україна), «Зелений чай» (Pharmacom, Україна), перевірена відповідність зазначених дієтичних добавок вимогам Фармакопеї США 38 щодо вмісту катехинів та вимогам ДФУ 2.3.

Вперше розроблено потенціометричну методику кількісного визначення суми вільних органічних кислот у сировині, проведено її валідацію та проведено стандартизацію сировини листя зеленого чаю відповідно до вимог ЄФ 9.0.

Вперше розроблено методики і визначено сумарну антиоксидантну активність листя зеленого чаю, його 96, 60, 40, 20 % етанольних настоянок та настою.

Розроблено параметри стандартизації рідкого екстракту листя зеленого чаю і одержаних на його основі гранул, досліджено 5 їх серій на відповідність розробленим вимогам.

Наукова новизна досліджень, проведених за темою дисертаційної роботи 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 одержаних результатів.** Розроблено схему одержання рідкого екстракту листя зеленого чаю і гранул на його основі.

За результатами фітохімічних досліджень розроблено проекти МКЯ на рідкий екстракт 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.

**Особистий внесок здобувача.** Особисто здобувачем здійснено патентно-інформаційний пошук, проаналізовано і систематизовано дані літературних джерел за темою дисертаційного дослідження.

Дисертантом проведено вивчення якісного складу і кількісного вмісту БАР в об'єктах дослідження. Розроблено схеми одержання рідкого екстракту з листя зеленого чаю і гранул на його основі, отримано їх серії. Визначено основні показники якості екстракту; розроблено проект МКЯ «Екстракт зеленого чаю рідкий», проведено стандартизацію дієтичної добавки «Кахінол» за вимогами ДФУ і антиоксидантною активністю.

**Структура та зміст дисертації.** Дисертація складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу, в якому описано основні методи та методики, що використовувались при проведенні досліджень, 3 розділів власних досліджень, висновків, додатків та списку використаних джерел, який містить 227 найменувань, з яких 74 кирилицею і 153 латиною. Дисертаційну роботу викладено на 199 сторінках машинописного тексту, вона ілюстрована 37 таблицями та 33 рисунками.

У *вступі* обґрунтовано вибір теми дослідження, сформульовані мета та завдання дослідження, наведені наукова новизна роботи і практичне значення одержаних результатів, зазначено особистий внесок здобувача, апробацію результатів дисертації, її обсяг та структуру.

У *першому розділі* (огляд літератури) дисертантом викладено критичний огляд наукових першоджерел щодо хімічного складу, застосування листя чаю в медицині і фармації, ролі вільних радикалів у виникненні патогенезу захворювань, а також аналіз українського ринку дієтичних добавок на основі листя зеленого чаю.

У *другому розділі* наведено об'єкти, прилади, реактиви, методи та методики проведення експериментальних досліджень, що свідчить про використання дисертантом для досліджень як класичних, так і сучасних інструментальних методів аналізу.

У *третьому розділі* обґрунтовано доцільність визначення антиоксидантної активності потенціометричним методом; обрані оптимальний робочий електрод, електроліт і склад медіаторної системи.

Досліджено вплив концентрації етанолу при визначенні рівня сумарної антиоксидантної активності. Розроблено підхід і запропоновано рівняння для розрахунку сумарної антиоксидантної активності з урахуванням зазначеного впливу.

За розробленою і валідованою потенціометричною методикою визначено антиоксидантну активність епігалокатехін-3-О-галату та дієтичних добавок «Green Tea Extract» (Source Naturals, США), «Екстракт зеленого чаю» (Еліт-фарм, Україна), «Зелений чай» (Pharmacom, Україна). Запропоновано терміни, що виражають рівень антиоксидантної активності.

У четвертому розділі наведено результати стандартизації листя зеленого чаю відповідно вимог ЄФ 9.0 за параметрами: опис, ідентифікація А, ідентифікація В, ідентифікація С (тонкошарова хроматографія), втрата в масі при висушуванні, загальна зола, вміст катехинів і кофеїну.

Фітохімічний скринінг основних груп БАР листя зеленого чаю показав наявність катехинів, флавоноїдів, алкалоїдів, гідроксикоричних та органічних кислот. Методом ТШХ були ідентифіковані епікатехін, епігалокатехін-3-О-галат, рутин, кофеїн, теобромін, хлорогенова, лимона, бурштинова і оксалатна кислоти. Встановлено, що всі досліджені дієтичні добавки містять епігалокатехін-3-О-галат і епікатехін.

Спектрофотометричним методом встановлено в листі зеленого чаю сумарний вміст фенольних сполук, катехинів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот і кофеїну. Проведено вивчення фенольних сполук методом ВЕРХ – ідентифіковано та визначено кількісний вміст 4 флавонолів, 3 флавононів, 2 флавонів, 4 фенолкарбонових кислот і 5 домінуючих флаван-3-олів.

Автором розроблено і валідовано потенціометричну методику кількісного визначення суми вільних органічних кислот у листі зеленого чаю. Для визначення оптимальних умов екстракції органічних кислот з сировини

проведено оцінку впливу таких факторів, як співвідношення «сировина : екстрагент», температури, тривалості часу екстракції та їх кількості.

Визначено кількісний вміст катехинів у дієтичних добавках «Green Tea Extract», «Екстракт зеленого чаю», «Зелений чай», встановлено їх відповідність вимогам Фармакопеї США 38 щодо вмісту катехинів; а також вимогам ДФУ 2.3.

За розробленою методикою визначено сумарну антиоксидантну активність листя, спиртових настоянок і настою зеленого чаю.

Проведено дослідження по визначенню оптимального екстрагенту і умов екстрагування для одержання рідкого екстракту з сировини. Регресійним аналізом визначено, що найбільш висока кореляція ( $R = 0,9255$ ) спостерігається між рівнем антиоксидантної активності і вмістом фенольних сполук у витягах листя зеленого чаю.

У *п'ятому розділі* розроблено параметри стандартизації рідкого екстракту листя зеленого чаю за показниками: опис, розчинність, ідентифікація (якісні реакції, ТШХ), вміст етанолу, метанолу і 2-пропанолу, сухий залишок, важкі метали, мікробіологічна чистота, вміст суми фенольних сполук і гідроксикоричних кислот, антиоксидантна активність. Досліджено 5 серій на відповідність розробленим вимогам та розроблено проект МКЯ «Екстракт зеленого чаю рідкий».

Обґрунтовано склад і технологію одержання гранул з екстрактом листя зеленого чаю; розроблено параметри їх стандартизації та досліджено 5 серій на відповідність розробленим вимогам.

Проведено стандартизацію дієтичної добавки «Кахінол» за вимогами ДФУ і антиоксидантною активністю.

Дисертацію завершують висновки, які повністю відповідають поставленим завданням, і списком використаних джерел літератури.

Дисертаційна робота базується на достатньому фактичному матеріалі і за результатами експериментів повністю підтверджує поставлену мету

дослідження. Ілюстративний матеріал підтверджує достовірність і значущість проведених експериментів.

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

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 22 наукові праці, з яких 5 статей у наукових фахових 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. Основний зміст дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня.

Публікації висвітлюють усі розділи дисертаційної роботи.

#### **Недоліки дисертації щодо її змісту та оформлення.**

Поряд із високою загальною оцінкою, на яку заслуговує робота Маслова Олександра Юрійовича, слід висловити окремі побажання і зауваження:

1. Методики ДФУ, використані у роботі, не доцільно наводити у дисертації. Достатньо було б відповідного посилання.

2. Розроблені Вами методики потенціометричного визначення кількісного вмісту суми органічних кислот в листі зеленого чаю, антиоксидантної активності епігалокатехін-3-О-галату, кількісного вмісту катехинів у дієтичних добавках варто було б наводити не у розділі 2, а перенести до відповідних експериментальних розділів.

3. Логічним було б проведення порівняльного дослідження вмісту катехинів і антиоксидантної активності у листі зеленого чаю і ферментованому (чорному) листі чаю.

4. У роботі зустрічаються стилістичні та граматичні помилки, русизми.

У порядку проведення наукової дискусії вважаю доцільним, щоб дисертант відповів на питання:

1. Чому при встановленні вмісту катехинів у листі чаю  $20,78 \pm 0,52$  % в проєкті МКЯ ви пропонуєте не менше 8,5 %?

2. Чому стандартизацію рідкого екстракту листя зеленого чаю Ви пропонуєте проводити за вмістом суми фенольних сполук і гідроксикоричних кислот, а не за вмістом катехинів та кофеїну?

3. При розробці методу кількісного визначення катехинів Ви використовували спектрофотометрію при довжині хвилі 272 нм. У той же час визначення вмісту кофеїну у сировині спектрофотометричним методом проводились при 272 нм. Чи не будуть при такому визначенні результати завищені?

4. Яку Ви ставили мету при проведенні послідовного екстрагування сировини етанолом із концентрацією, що зменшується і водою?

Проте приведені зауваження мають рекомендаційний характер та не впливають на загальну позитивну оцінку і значення дисертаційної роботи.

**Відповідність дисертації обраній спеціальності, профілю спеціалізованої вченої ради та вимогам МОН України.** Дисертаційна робота Маслова Олександра Юрійовича на тему «Фітохімічне вивчення та стандартизація лікарських засобів антиоксидантної дії з листя зеленого чаю» є актуальною та виконана з використанням сучасних методів експериментального дослідження, має наукову новизну та практичну значимість одержаних результатів досліджень. 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».

Офіційний опонент:

заступник декана фармацевтичного  
факультету ПВНЗ «Київський  
медичний університет»,  
доктор фармацевтичних наук,  
професор

Тетяна ІЛЬІНА

Підпис професора Т. Ільїної засвідчую  
Начальник відділу кадрів ПВНЗ «Київський  
медичний університет»



Олег БАЗІЧЕВ