

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

кандидата фармацевтичних наук, доцента кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
Національного університету «Львівська політехніка»

КОНЕЧНОЇ РОКСОЛАНИ ТАРАСІВНИ

на дисертаційну роботу аспіранта кафедри промислової фармації
Київського національного університету технології та дизайну

ЗДЕРКО НАЗАРА ПЕТРОВИЧА

«Розроблення фармацевтичної композиції протизапальної дії на основі
рослинної сировини *Cichorium intybus*», подану
на здобуття ступеня доктора філософії
у галузі знань 22 – Охорона здоров'я за спеціальністю
226 – Фармація, промислова фармація

Актуальність теми дисертаційної роботи

Запалення є важливою реакцією імунної системи, яка забезпечує виживання під час інфекції та пошкодження тканин. Запальні реакції необхідні для підтримки нормального тканинного гомеостазу. Однак регуляція інтенсивності запальної реакції з використанням фармакологічних засобів є важливим елементом лікування багатьох захворювань, тому гостро стоїть проблема розробки нових та безпечних лікарських засобів для боротьби з запаленням.

Останнім часом все більше досліджень присвячені пошуку нових плейотропних ефектів відомих активних фармацевтичних інгредієнтів, оскільки вони вже описані та досліджені, для них відомі фармакокінетичні та фармакодинамічні показники та досліджена токсичність. Багатообіцяючими активними фармацевтичними інгредієнтами, в даному відношенні є діосмін та гесперидин, оскільки вони широко використовуються в медицині як венотоніки та ангіопротектори та внесені в європейську фармакопею (Ph. Eur. 1611). Діосмін і гесперидин в дослідженнях проявляють велику кількість фармакологічних активностей, серед яких є і протизапальна.

Перспективним напрямком є пошук фармакологічних активностей

рослинних екстрактів. Важливою перевагою терапевтичного застосування лікарських рослин та екстрактів з них є їх відносна безпека, ефективність, економічна доцільність і доступність.

Розробка нових фармацевтичних композицій на основі пошуку плейотропних ефектів активних фармацевтичних інгредієнтів є актуальним завданням фармацевтичної науки. Застосування флавоноїдів а також багатих на них екстрактів з біотехнологічної рослинної сировини, як потенційних моделей та перспективних кандидатів, дозволить вирішити поставлене завдання та комплекс проблем при лікуванні людей вікової категорії 60+ років. Саме тому, особливої актуальності набувають наукові дослідження з розроблення нових та безпечних лікарських засобів для боротьби з запаленням.

Аналіз літературних джерел свідчить про потенційні протизапальні властивості екстрактів *Cichorium intybus* L.. Підвищення кількості біологічно активних речовин в екстракті *Cichorium intybus* L. досягається отриманням культур «волохатих» коренів.

Актуальність досліджень у позначеному напрямку обумовлена попередніми дослідженнями та науковим прогнозуванням ефективності застосування комбінації фармакопейних флавоноїдів діосміну та гесперидину з одним із сухих екстрактів з «волохатих» коренів *Cichorium intybus* L. в лікарській формі супозиторіїв, що дозволить створити високоефективну протизапальну фармацевтичну композицію та доступний лікарський засіб на її основі в першу чергу для людей літнього та старечого віку.

Створення технології фармацевтичної композиції протизапальної дії з керованими фізико-хімічними та фармакологічними властивостями на основі рослинної сировини *Cichorium intybus* L. є перспективним напрямком фармацевтичної науки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана у відповідності до наукового напрямку КНУТД №21/19 «Фундаментальні технології активного довголіття», перспективного плану розвитку наукового напрямку «Біологія та охорона здоров'я» Київського національного університету технологій та дизайну у 2021-2025 роках (№0122U000139), планів науково-дослідних робіт КНУТД: НДР за державним замовленням «Розроблення геріатричної фармацевтичної композиції для лікування нейродегенеративних захворювань» (№0117U007411), фундаментальної НДР «Моделювання наноструктурних екологічних систем деконтамінації фосфорорганічних токсичних речовин» (№0116U004574), госпрозрахункової НДР «Послуги з тестового розрахунку кінетичних параметрів ферментативних реакцій інгібування 15-LOX із застосування спеціального програмного забезпечення» (№ 1139 від 08.12.2021 р.), госпрозрахункової НДР «Дослідження протизапальної активності та розробка лабораторної технологічної схеми виробництва лікарського засобу» (№1077 від 04.03.2021 р.), ініціативної НДР «Фундаментальні технології розробки та виробництва лікарських засобів» (№O121U114647), ініціативної НДР «Розробка інноваційних лікарських засобів на базі плейотропних ефектів активних фармацевтичних інгредієнтів» (№O121U114646).

Структура та зміст дисертації

Дисертаційна робота викладена на 205 сторінок, із яких 148 сторінок основного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел (183 найменування на 25 сторінках), 5 додатків (на 11 сторінках). Робота ілюстрована 40 таблицями та 30 рисунками.

Вступ має типову структуру: обґрунтовано вибір теми дослідження та її актуальність, розкрито зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами науково-дослідних робіт університету, представлено мету і завдання дослідження, наведено предмет, об'єкт і методи дослідження, зазначено наукову новизну одержаних результатів та їх практичне значення, визначено особистий внесок здобувача, представлено апробацію результатів дисертації,

наведено структуру та обсяг роботи.

В **першому розділі** дисертаційної роботи представлено інформаційну та теоретичну основу досліджень. Розділ присвячено науковому огляду сучасного погляду біології та медицини на запалення як важливу захисну функцію організму, розглянуто молекулярні та клітинні механізми її виникнення. Доволі широко висвітлено роль ліпоксигеназ, як одного з основних елементів регуляції клітинного окисно-відновного гомеостазу. Детально описано використання діосміну в сучасній медицині та його потенційні протизапальні плейотропні властивості. Відмічено високий потенціал екстрактів з рослинної сировини *Cichorium intybus* L..

У **другому** розділі описано обладнання, матеріали та методики проведення експериментальних досліджень діосміну, гесперидину, екстрактів з «волохатих» коренів *Cichorium intybus* L. та їх сумішей. Детально описано отримання культури «волохатих» коренів *Cichorium intybus* L. за допомогою *Agrobacterium rhizogenes* та її клонів. Описано процедуру екстракції досліджуваної біотехнологічної культури. Викладено методику визначення інгібування 15-ліпоксигенази.

У **третьому** розділі описано результати досліджень впливу природи розчинника на вміст флавоноїдів та властивості одержаних екстрактів з біотехнологічної сировини *Cichorium intybus* L.. Представлено результати проведеного якісного скринінгу поліфенольних сполук в отриманому етанольному екстракті та кількісного їх визначення. Описано результати дослідження потенційної протизапальної активності діосміну, гесперидину, 70% етанольного екстракту з «волохатих» коренів *Cichorium intybus* L. та їх сумішей.

У **четвертому** розділі представлено результати проведеної розробки складу та технології лікарського засобу на основі діосміну та 70% етанольного екстракту з «волохатих» коренів *Cichorium intybus* L. у співвідношенні 9:1. У розділі описано цільовий профіль якості продукту (QTPP), повний факторний експеримент по вибору складу та технології виготовлення розроблюваного

лікарського засобу. Представлено результати досліджень сумісності компонентів лікарського засобу та його стабільності.

П'ятий розділ присвячено результатам розробки методики очищення обладнання після напрацювання розроблюваного лікарського засобу з застосуванням в якості модельної речовини N-фосфонометилгліцину і апробації даної методики.

Висновки по дисертаційній роботі відображають досягнення поставленої мети та вирішення завдань, містять результати науково-практичних досліджень, обґрунтувань та рекомендацій, чітко демонструють наукову новизну представленого матеріалу та важливість отриманих результатів для фармацевтичної галузі.

Загалом, оцінюючи в цілому зміст дисертаційної роботи Карпюк Вікторії Русланівни, варто зазначити, що робота представлена логічно, з належним науково-прикладним обґрунтуванням кожного етапу дослідження. Надані розробки та результати мають необхідні пояснення й не викликають сумніву в їх обґрунтованості та достовірності.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і
рекомендацій, що сформульовані у дисертаційній роботі та їх
достовірність**

Дисертаційне дослідження є добре спланованим, мета роботи і постановка завдання для вирішення цієї мети чітко сформульовані та аргументовані. Обсягу наукового матеріалу, наведеного в дисертації, цілком достатньо для обґрунтування основних положень та висновків, які враховують всі результати теоретичних та експериментальних досліджень. Висновки сформульовані чітко, коректно та лаконічно, є науково обґрунтованими та відповідають змісту наведеного матеріалу.

Достовірність одержаних автором результатів не викликає сумніву, враховуючи, що експериментальні результати отримані із використанням таких сучасних методів дослідження, як рідинна хроматографія - мас-спектрометрія високої роздільної здатності (LC-HRMS), високоефективна

рідинна хроматографія з діодно-матричним детектором (HPLC-DAD), інфрачервона спектроскопія з Фур'є перетворенням (FTIR), УФ-спектрофотометрія та інші.

Достовірність отриманих результатів та висновків дисертаційної роботи засвідчується сучасними статистичними методами, проведеними з використанням програмного забезпечення. Для статистичного аналізу даних було використано дисперсійний аналіз ANOVA з пост-факторним тестом Tukey HSD.

Новизна дослідження та одержаних результатів

Наукова новизна результатів дисертаційного дослідження полягає в підборі та обґрунтуванні суміші активних фармацевтичних інгредієнтів, що складається з діосміну та 70%-етанольного екстракту з “волохатих” коренів *Cichorium intybus* L. у співвідношенні 9:1, та володіє потенційно високою протизапальною активністю ефективно інгібуючи 15-ліпоксигеназу (концентрація напівмаксимального інгібування 15-ліпоксигенази IC₅₀ = 66,04 ± 6,16 мкМ). Продемонстровано, що суміш вищезазначених АФІ ефективніше інгібує 15-ліпоксигеназу, ніж кожен з компонентів окремо. Також показано, що 70%-етанольний екстракт з “волохатих” коренів *Cichorium intybus* L. більш ефективно інгібує 15-ліпоксигеназу, ніж діосмін.

Вперше визначено, що гесперидин може мати прозапальні властивості та активує 15-ліпоксигеназу (Ka = 933,77 ± 98,44 мкМ).

Здобувачем вперше встановлено молекулярний механізм інгібування 15-ліпоксигенази діосміном та 70%-етанольним екстрактом з “волохатих” коренів *Cichorium intybus* L., а саме змішаного (часткового) типу інгібування.

Теоретичне значення отриманих результатів

Результати представленої дисертаційної роботи надають нові уявлення щодо сучасних підходів до розробки технології комплексного використання флавоноїдів та водно-етанольних екстрактів з біотехнологічної рослинної сировини у виробництві протизапальних геріатричних лікарських засобів на підставі проведення комплексних фармакотехнологічних, фізико-хімічних, та біологічних досліджень.

Практичне значення одержаних результатів

Практична цінність одержаних результатів базується на тому, що одержані результати по розробці лабораторної технології отримання протизапальної фармацевтичної композиції на основі суміші діосміну з 70% етанольним екстрактом з “волохатих” коренів *Cichorium intybus* L. в співвідношенні 9:1, та по дослідженню сумісності її компонентів та стабільності готової лікарської форми можуть бути використані вітчизняними виробниками при розробці нових лікарських засобів.

Результати проведених досліджень біологічної активності екстрактів з біотехнологічної сировини *Cichorium intybus* L. впроваджено в навчальний процес кафедри аптечної технології ліків Національного фармацевтичного університету, а лабораторна технологія одержання та дослідження властивостей екстракту з біотехнологічної рослинної сировини *Cichorium intybus* L. впроваджена на підприємстві ТОВ «Ковлар Груп».

Повнота викладення основних наукових положень, висновків та рекомендацій дисертації в опублікованих працях

Основні положення та отримані наукові результати дисертаційної роботи достатньою мірою висвітлені у достатній кількості публікацій у наукових фахових виданнях та апробовані на всеукраїнських та міжнародних наукових конференціях, а саме: 2 статті опубліковані в міжнародних журналах, що входять до науково-метричної бази Scopus, 2 статті – у фахових наукових виданнях України, 4 статті – в інших виданнях, які додатково висвітлюють результати дослідження, та 25 тез доповідей на наукових конференціях, з них 13 – доповіді на міжнародних конференціях.

Опубліковані наукові роботи достатньо відображують зміст дисертаційного дослідження, основні його результати та наукову новизну.

Дискусійні положення та зауваження до дисертаційної роботи

У цілому дисертаційна робота виконана та оформлена належним чином. Загалом позитивно оцінюючи дослідження Здерко Назара Петровича, варто вказати на деякі його недоліки і дискусійні положення:

1. У дисертаційній роботі представлено дослідження впливу біологічно активних речовин на активність 15-ліпоксигенази, проте в переліку реактивів (таблиця 2.1) та в методиці проведення експерименту вказана 15-ліпоксигеназа з сої (15-sLOX). Доцільно вказати чи є між ними різниця, якщо є, то яка саме?

2. При отриманні трансгенної культури «волохатих» коренів *Cichorium intybus* L., багатой на поліфенольні сполуки, зокрема флавоноїди, рослину піддають впливу бактерій *Agrobacterium rhizogenes*. Наскільки процес утворення трансгенної культури контрольований, та чи можливо задавати бажані властивості майбутній трансгенній культурі?

3. В першому розділі дисертаційної роботи зазначено, що супозиторії можуть використовуватись як для системної так і для місцевої доставки ліків. В четвертому розділі не сказано яку саме дію має розроблений лікарський засіб Діосмін-Цикорій, супозиторії ректальні по 500 мг, місцеву чи системну.

4. В третьому розділі дисертаційної роботи представлено результати дослідження впливу природи екстрагента на вміст флавоноїдів та властивості екстрактів. Чи було проведено дослідження екстрактів з «волохатих» коренів *Cichorium intybus* L. з використанням інших екстрагентів, таких як етилацетат чи гексан?

5. Автору слід показати в чому різниця між компонентами супозиторної основи – твердими жирами SUPPOSIRE NA 15 PELLETS та SUPPOSIRE NAS 50 PELLETS?

6. У роботі автору доцільно використовувати та дотримуватися фармакопейної номенклатури лікарської рослинної сировини.

7. В тексті дисертації зустрічаються поодинокі орфографічні помилки, невдалі вислови і неточності.

Проте, зазначені зауваження суттєво не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи в цілому, яка є цікавим і оригінальним дослідженням та виконана на високому науково-технічному рівні і не зменшують її наукової та практичної цінності. Вважаю, що опубліковані результати достатньо повно відображають зміст дисертаційної роботи.

Висновок

На підставі наукової новизни роботи, її значної практичної значимості для фармацевтичної галузі, з урахуванням оригінальних наукових публікацій вважаю, що представлена дисертаційна робота Здерко Назара Петровича на тему «Розроблення фармацевтичної композиції протизапальної дії на основі рослинної сировини *Cichorium intybus*» на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 226 – «Фармація, промислова фармація» є завершеною науковою працею, що відповідає наказу МОН України № 40 від 12.01.2017р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», 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 Здерко Назар Петрович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація.

Офіційний опонент:
доцент кафедри технології
біологічно активних сполук,
фармації та біотехнології
Національного університету
«Львівська політехніка»
кандидат фармацевтичних наук,
доцент



Роксолана КОНЕЧНА

Підпис к.фарм.н., доцента Роксолани Конечної
«ЗАСВІДЧУЮ»

Вчений секретар Національного університету
«Львівська політехніка»

« 24 »

1-

2023



Роман БРИЛИНСЬКИЙ