

## ВІДГУК

офіційного опонента, завідувача кафедри фармацевтичного управління, технології ліків та фармакогнозії Івано-Франківського національного медичного університету, доктора фармацевтичних наук, професора Грицика Андрія Романовича на дисертаційну роботу **Котова Семена Андрійовича «Аналітичне забезпечення фармацевтичної розробки рослинного засобу антиалергічної дії»**, подану до спеціалізованої вченої ради ДФ 64.605.066 Національного фармацевтичного університету МОЗ України, утворена наказом Національного фармацевтичного університету від 05.07.2023 р. № 50-Адм. 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.** Алергія – це стан зміненої (підвищеної) реакції організму на повторну дію різних зовнішніх факторів або компонентів навіть власних тканин. Алергенами можуть бути хімічні сполуки, шерсть тварин, мікроорганізми і віруси, харчові продукти (полуниці, суниці, цитрусові, помідори, яйця, риба, м'ясо та ін.), різноманітний пилок (частіше злакових, побутовий), а також карантинні рослини. До алергічних захворювань належать полінози, кропивниця, набряк Квінке, алергічний нежить, контактний дерматит, хвороба сироваткова, ядуха (астма бронхіальна), еозинофільні інфільтрати, харчова алергія.

Як протиалергічний засіб череда трироздільна заслуговує особливої уваги, яка росте по всій території України. У клінічній фітотерапії рослина заслужила слави як протиалергічний засіб завдяки фізіологічно активним речовинам – флавоноїдам, полісахаридам, танінам тощо. Вони виявляють протимікробну, протизапальну, ранозагоювальну, потогінну, сечогінну, жовчогінну дію, поліпшують функцію печінки, нормалізують обмін речовин.

При алергічних захворюваннях доцільно використовувати також суміші лікарських рослин.

Тому перспективним є розробка комбінованого рослинного лікарського засобу поліфункціональної дії для лікування алергічних захворювань.

**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 комплексних науково – дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної

сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946), «Розробка та валідація методів контролю якості лікарських засобів аптечного та промислового виробництва» (номер державної реєстрації 0114U000949), а також відповідно до плану робіт зі створення Державної Фармакопеї України згідно Указу Президента України № 615/98 від 11.06.1998 та на виконання науково-дослідних робіт із розробки та підготовки монографій до Державної Фармакопеї України 2-го видання (Державний реєстраційний номер 0107U012267).

**Наукова новизна одержаних результатів** полягає в фітохімічному дослідженні видів череди: в фармакопейному виді вперше методами ТШХ і ВЕРХ виділено та ідентифіковано кверцитрин, речовину, яка є діагностичною для ч. пониклої, домішки якої можна контролювати за допомогою описаних методів у фармакопейному виді.

Розроблено технологію отримання комбінованого лікарського засобу антиалергічної дії у виді екстракту сухого та подрібненого збору ЛРС для виготовлення таблетованих і капсульних форм, збору лікарських рослин у пачках (пакетах, фільтр пакетах), дозованої форми у вигляді капсул, що підтверджено патентом України на винахід № 126141 від 17.08.2022 р.

Розроблено технологічний процес виробництва комбінованого лікарського рослинного засобу антиалергічної дії на основі череди трави, нагідок квіток і глоду листя і квіток, що підтверджено патентом України на корисну модель № 149399 від 17.11.2021 р.

Встановлено наявність і кількість в комбінованому рослинному засобі екстрактивних речовин, полісахаридів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, поліфенольних сполук, терпеноїдів.

Встановлено протиалергічну активність комбінованого сухого рослинного екстракту на рівні препарату порівняння Діазолін, на моделі активної кожної анафілаксії встановлена здатність розробленого фітозасобу зменшувати проникність капілярів шкіри на рівні препарату Тесалін, а в тесті непрямой дегрануляції тучних клітин комбінований екстракт не відрізнявся за мембрано стабілізуючими властивостями від дії Дезлоратадину і значно перевищував препарати порівняння Діазолін і Тесалін.

**Практичне значення одержаних результатів.** При виконанні дисертаційних досліджень Котов С.А отримав нові наукові дані, які мають теоретичне та практичне значення. В дисертаційній роботі визначено основні показники якості вітчизняних зразків череди трави, які включені до проекту монографії ДФУ 2.2 «Череди трава» та удосконалені методики ідентифікації

за макро- і мікроскопічними ознаками та розроблену методику визначення вмісту полісахаридів в сировині, які включені до проєкту монографії ДФУ 2.5 «Череди трава» (акти впровадження від ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» №11/320-5, №11/321-5, №11/323-5 від 18.03.2020 р. та №11/131-5, №11/132-5, №11/133-5 від 17.04.2023 р. відповідно).

Розроблено технологію отримання комбінованого лікарського засобу антиалергічної дії у виді екстракту сухого та подрібненого збору ЛРС для виготовлення таблетованих і капсульних форм, збору лікарських рослин у пачках (пакетах, фільтр пакетах), дозованої форми у вигляді. Розроблено методики контролю якості при виробництві (постадійний контроль) лікарських рослинних засобів.

Розроблено проєкти МКЯ «Асенсефіт чай» (комбінований рослинний збір/рослинний чай у фільтр-пакетах), «Асенсефіт екстракт сухий» (комбінований рослинний сухий екстракт) та «Асенсефіт капсули».

Встановлено антиалергічну активність розробленого комбінованого рослинного екстракту.

Результати досліджень дисертаційної роботи Котова С.А. впроваджено в роботу ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», про що свідчать акти впровадження.

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Дослідження виконані на сучасному науковому рівні. Всі наукові положення, висновки та практичні рекомендації базуються на експериментальному матеріалі і логічно витікають з одержаних результатів. Загальні висновки до дисертації викладені чітко, стисло і повністю відображають результати проведеної роботи, а їх достовірність не викликає сумніву. Матеріал, наведений у дисертаційній роботі Котова С.А., є новим та перспективним, про що свідчать результати впровадження у практичну фармацію.

**Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях.** За матеріалами дисертації опубліковано 22 наукові роботи, у тому числі 11 статей у наукових фахових виданнях, з них 1 у періодичному науковому виданні, яке індексується у Scopus та 1 у періодичному науковому виданні, яке індексується у WoS, 9 тез доповідей, 1 патент України на корисну модель та 1 патент України на винахід.

Результати дисертації були оприлюднені на 9 науково-практичних конференціях різного рівня – як в Україні, так і за кордоном.

**Аналіз основного змісту роботи, ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків.** Дисертаційна робота викладена на 235 сторінках друкованого тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу з характеристикою об'єктів, методів та методик дослідження, 3 розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок. Робота проілюстрована ілюстрована 51 таблицями та 38 рисунками. Список використаних джерел містить 178 найменувань, з них 84 кирилицею та 94 латиницею. У додатках представлені акти про участь у розробці проекту монографії «Череди трава<sup>N</sup>», акти про апробацію методик контролю якості, проекти методик контролю якості лікарського засобу, патенти України на корисну модель і на винахід.

У *вступі* дисертант обґрунтовує вибір теми дослідження, формулює мету і завдання дослідження, наводить методи дослідження, наукову новизну і практичне значення одержаних результатів, інформацію про особистий внесок здобувача, апробацію результатів дисертації, її обсяг і структуру.

У *першому розділі* дисертантом наведено критичний огляд наукових першоджерел щодо лікарської рослинної сировини, яка є альтернативним традиційним засобами антиалергічної дії, наведено ботанічної характеристики, хімічного складу, медичного застосування череди трироздільної трави, глоду листя та квіток, нагідок квіток. Обґрунтовано підходи до стандартизації череди трироздільної трави, нагідок квіток, глоду листя та квіток. Наведено інформацію про фітохімічний та фітофармакологічний аналіз сумарних рослинних препаратів. Дисертант аналізує фармацевтичну розробку як основу створення якісних ефективних та безпечних лікарських препаратів.

У *другому розділі* наведено інформацію про об'єкти, прилади, реактиви, методи та методики дослідження.

У *третьому розділі* представлено інформацію про вхідний контроль ЛРС, що входить до складу рослинного засобу. Дисертантом проаналізовано зразки нагідок квіток, глоду листя та квіток, які використані для отримання багатокомпонентного рослинного засобу. Аналіз різних зразків череди трави дозволив дисертанту сформулювати тексти розділів Ідентифікація А та Ідентифікація В для проектів національної монографії «Череди трава» для ДФУ 2.2 та ДФУ 2.5. В дисертації наведено результати розробки і валідації ТШХ – методики ідентифікації череди трави і контролю домішок інших видів череди в фармакопейному виді та запропоновано в якості стандартів

запропоновано використання ФСЗ ДФУ лютеоліна, гіперозида та вперше ФСЗ ДФУ череди пониклої. В розділі наведено результати дослідження компонентного складу флавоноїдних сполук різних видів трави череди. Дисертантом розроблено спектрофотометричну методику визначення глікозидів флавоноїдів після реакції з сумішшю борна-щавлева кислота у середовищі кислот мурашина-оцтова та методику гравіметричного визначення полісахаридів череди трави.

У *четвертому розділі* описано підходи до фармацевтичної розробки рослинного засобу антиалергічної дії, її аналітичне забезпечення якості. Результати фітохімічного і фітофармакологічного дизайну, а також аналіз кореляційної залежності «дія-сума БАР» дозволили автору продемонструвати перспективність комбінованого ЛРП для використання в комплексній терапії алергічних захворювань, що супроводжуються зниженням резистентності організму та імуностатусу. В розділі наведено результати розробки технологічних підходів щодо екстракції ч. трироздільної трави, нагідок квіток та глоду листя та квіток і результати відпрацювання критичних технологічних параметрів екстракції сировини в лабораторних умовах. Досліджено процес екстрагування різних фармакологічно активних класів БАР (поліфеноли, флавоноїди, полісахариди) із 3-х видів ЛРС. З'ясовано що оптимальним співвідношенням для всіх видів ЛРС є співвідношення сировина/екстрагент 1:20 і 40% етанол. Наведено результати розробки та відпрацювання в лабораторних умовах технології одержання комбінованого рослинного засобу, яка передбачає одержання засобу в різних формах (подрібнена сировина, рідкий екстракт, густий екстракт, сухий екстракт, капсули). Автором наведено результати вивчення фармако-технологічних характеристик капсульної маси комбінованого рослинного засобу. Наведено результати фітохімічного аналізу комбінованого рослинного збору.

У *п'ятому розділі* наведено результати стандартизації та вивчення антиалергічної дії комбінованого рослинного засобу. Розроблено методики контролю якості з урахуванням конкретної лікарської форми. Наведено результати розробки проєкту МКЯ «Асенсефіт, чай» на комбінований рослинний збір/рослинний чай у фільтр-пакетах з методами ідентифікації за показниками та проєкту МКЯ «Асенсефіт, екстракт сухий» на комбінований рослинний сухий екстракт, для якого серед іншого розроблено ТШХ-методику ідентифікації та 2 спектрофотометричні методики кількісного визначення. Розроблено параметри стандартизації капсул комбінованого

рослинного засобу відповідно до вимог ДФУ. Досліджено кореляцію між вмістом БАР у різних комбінаціях рослинних екстрактів, які є складовими комбінованого засобу та їх антиоксидантною активністю. Дисертантом наведено результати дослідження протиалергічних властивостей розробленого комбінованого рослинного сухого екстракту.

Необхідно відзначити, що експериментальна частина виконана на високому науковому рівні, має теоретичне обґрунтування та супроводжується обговоренням отриманих результатів. Висновки роботи обґрунтовані та відповідають меті роботи та поставленим завданням.

### **Зауваження і пропозиції**

Результати роботи вірогідні, висновки зроблені на їх основі не викликають заперечень. Проте виникають питання та є ряд зауважень:

**1. В розділі 1 Лікарська рослинна сировина, що використовуються у якості засобів антиалергічної дії. підходи до фармацевтичної розробки і стандартизації (огляд літератури)** наведено принцип відбору рослин для даного дослідження. Автор акцентує увагу на комбінації Череда – Нагідки - Глід. Цю інформацію доцільно включити в **розділ 4.1 Дизайн комбінованого рослинного засобу.**

**2.** В розділі 2.1 не вказано умови заготівлі і сушіння нагідок квіток.

**3.** В таблиці 4.5 наведено результати вивчення динаміки вилучення екстрактивних речовин з ЛРС. Як екстрагент запропоновано 25 %, 40 % та 60 % етанол. Чим Ви можете обґрунтувати використання саме цих концентрацій етанолу?

**4.** В таблиці 4.8 наведено результати визначення вмісту БАР в різних водно-спиртових екстрактах череди трави та їх антиоксидантну активність, в тому числі полісахаридів. Якими дослідженнями було підтверджено вміст полісахаридів (1,04 %) при екстракції сировини 60% етанолом.

**5.** У висновку 4.5 вказано результати фітохімічного аналізу сухого комбінованого екстракту та окремих його складових з використанням методів ВЕРХ, СФ, денситометрії. Рекомендовано стандартизувати за вмістом флавоноїдів в перерахунку на лютеолін-7-глюкозид, поліфенолів в перерахунку на пірогалол і терпеноїдів у перерахунку на олеанолову кислоту. Чим обґрунтована стандартизація сухого комбінованого екстракту за вмістом поліфенолів?

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

**1. В розділі 5.1.1 Критерії стандартизації комбінованого рослинного збору** наведено результати випробування методом ТШХ в умовах методики національної монографії «Череди трава<sup>N</sup>». Вказано, що виявлено характерні зони, властиві череді, нагідкам і глоду, серед яких жовта флуоресціююча зона на рівні зони рутину (нагідки, глід); інтенсивна жовта флуоресціююча зона в середній частині хроматограми (череда і глід); 2 інтенсивні блакитні флуоресціюючі зони у верхній третині хроматограми (череда, нагідки, глід); 2 червоні флуоресціюючі зони, розташовані близько до фронту розчинника (череда, глід). Чи метод ТШХ в умовах методики національної монографії «Череди трава<sup>N</sup>» дозволяє ідентифікувати компоненти рослинного збору?

**2. Нагідок квітки стандартизують за вмістом флавоноїдів** (не менше 0,4 % в перерахунку на гіперозид), глоду листя та квітки - за вмістом флавоноїдів (не менше 1,3 % в перерахунку на гіперозид), череди траву - за вмістом флавоноїдів (не менше 1 % в перерахунку на лютеолін-7-глюкозид). Чим обґрунтована стандартизація комбінованого рослинного засобу за вмістом суми флавоноїдів в перерахунку на лютеолін-7-глюкозид?

Дослідження в дисертаційній роботі Котова С.А. виконані на сучасному науковому рівні, що свідчить про високий рівень знань, теоретичної та практичної підготовки дисертанта. Розділи дисертації включають теоретичний і практичний аспект дослідження, кожен розділ та підрозділ присвячується певній задачі, поставленій дослідженням. Новизна, достовірність наукових теоретичних і практичних результатів не викликає сумнівів. Наведені дискусійні моменти та зауваження не впливають на загальну високу оцінку роботи.

**Відповідність дисертації вимогам, що пред'являються до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії**

Розглянувши дисертацію Котова Семена Андрійовича за темою «*Аналітичне забезпечення фармацевтичної розробки рослинного засобу антиалергічної дії*» та наукові праці, в яких висвітлені основні наукові результати, вважаю, що робота є актуальною та виконана з використанням сучасних методів експериментального дослідження, має наукову та практичну значимість отриманих результатів проведених досліджень. У роботі відсутні порушення академічної доброчесності.

Дисертація **Котова Семена Андрійовича** за темою «*Аналітичне забезпечення фармацевтичної розробки рослинного засобу антиалергічної дії*» є закінченим науковим дослідженням, у якому отримано нові науково обґрунтовані результати.

Дисертаційна робота повністю відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 р. № 44 та Вимогам до оформлення дисертації, затвердженим наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р., які висуваються до дисертаційних робіт на здобуття ступеня доктора філософії, а її автор, **Котов Семен Андрійович**, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Завідувач кафедри фармацевтичного управління,  
технології ліків та фармакогнозії  
Івано-Франківського національного медичного університету

 д-р фарм. наук, професор **Грицик А.Р.**

