

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 Корабля Івана Михайловича на тему «Пошук сировинних джерел сквалену і їх комплексне дослідження», що представлена до спеціалізованої вченої ради ДФ35.600.158 створеної згідно до наказу ректора Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького №171-з від 26.03.2026 року на підставі рішення Вченої ради ДНТ «ЛНМУ імені Данила Галицького» № ВР-3 від 25.03.2026 року з правом прийняття до розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Актуальність теми дисертаційного дослідження. Сучасний стан фармацевтичної та біотехнологічної галузей характеризується стрімким зростанням попиту на високочисті біологічно активні сполуки природного походження. Серед них особливе місце посідає сквален - ациклічний тритерпен, який завдяки своїм унікальним антиоксидантним, імуномодулюючим та дерматопротекторним властивостям став незамінним компонентом у виробництві вакцинних ад'ювантів, косметичних засобів та дієтичних добавок. Дисертаційна робота Івана Михайловича Корабля, представлена на здобуття ступеня доктора філософії, пропонує комплексний підхід до розв'язання фундаментальної проблеми: заміни дефіцитної та етично спірної тваринної сировини (жиру з печінки глибоководних акул) на відновлювані рослинні та грибні ресурси.

Глобальні тренди охорони довкілля та жорсткі обмеження міжнародних конвенцій (зокрема CITES) щодо вилову акул вимагають негайного переходу на сталі джерела біологічно активних речовин. Пошук альтернативних джерел, здійснений автором, повністю відповідає концепції сталого розвитку та «зеленої» фармації. Для вітчизняного фармацевтичного ринку критично важливим є створення власної сировинної бази. Дослідження дикорослих макроміцетів флори України та розробка методів інтенсифікації накопичення сквалену в культивованих видах дозволяє зменшити залежність від дорогого імпорту та забезпечити технологічний суверенітет галузі.

Актуальність роботи визначається не лише пошуком нових джерел сквалену, а й пропозицією керованого впливу на метаболізм продуцентів. Використання специфічних інгібіторів ферментних систем (скваленоксидази) є перспективним питанням сучасної молекулярної біотехнології.

Традиційна фармакогнозія тривалий час фокусувалася переважно на вищих рослинах. Робота І.М. Корабля розширює межі дисципліни, залучаючи до глибокого фітохімічного (мікохімічного) аналізу макроміцети. Це актуалізує питання створення нових монографій на лікарську грибну сировину, що є перспективним напрямом сучасної фармації.

Сквален є сполукою, схильною до швидкої деградації. Актуальність дослідження полягає у розробці методологічних підходів до ідентифікації та кількісного визначення сквалену в складних багатокомпонентних матрицях екстрактів за допомогою сучасних методів (HPLC-MS, ГХ-МС). Це створює підґрунтя для розробки методів контролю якості (МКЯ) на майбутні субстанції.

Актуальність роботи підтверджується вивченням фізико-хімічних властивостей не лише сквалену, а й супутніх речовин (хітину, полісахаридів). Це має важливе значення для промислової фармації при виборі допоміжних речовин, методів екстракції та стабілізації

готових лікарських форм. Таким чином, робота заповнює існуючу нішу у вітчизняній фармакогнозії щодо джерел тритерпенових сполук і пропонує фармацевтичній галузі науково обґрунтовані алгоритми пошуку, аналізу та переробки нової лікарської сировини.

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом комплексної науково-дослідної роботи ДНТ «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» (державна реєстрація № 0121U107504).

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що вперше:

– проведено ґрунтовний аналіз 21 виду грибів (переважно класу *Agaricomycetes*), що дозволило виявити закономірності накопичення сквалену залежно від стадії онтогенезу плодових тіл. Важливим науковим висновком є встановлення найвищої концентрації цільової сполуки саме на ранніх етапах розвитку грибів;

– вивчено *Laetiporus sulphureus*, *Pleurotus ostreatus* та *Fomitopsis betulina*, що дозволило автору виявити суттєву різницю у вмісті сквалену між дикорослими та штучно вирощеними грибами. Це відкриває нові наукові перспективи щодо пошуку оптимальних екологічних факторів для інтенсифікації біосинтезу сквалену в умовах промислового культивування;

– доведено можливість отримання високоякісного хітину зі шроту плодових тіл грибів після вилучення основних екстрактивних речовин. Наукова цінність цієї частини роботи підтверджена результатами ІЧ-спектроскопії та визначенням молекулярної маси отриманих біополімерів для п'яти найбільш перспективних видів;

– розроблено метод штучного підвищення вмісту сквалену в *Pleurotus ostreatus* шляхом застосування тербінафіну гідрохлориду як специфічного інгібітора скваленоксидази. Отримані результати демонструють перевагу цього методу над традиційним отриманням сквалену з рослинної сировини, оскільки вихід цільового продукту значно перевищує показники представників роду *Amaranthus*.

Практичне значення одержаних результатів полягає у розробці конкретних технологічних рішень та методичних підходів, що можуть бути безпосередньо інтегровані у фармацевтичне та біотехнологічне виробництво.

Розроблено та експериментально обґрунтовано методику послідовної екстракції біомаси щиріці хвостатої (*Amaranthus caudatus* L.), що дозволяє з одного завантаження сировини отримувати ліпофільну фракцію (зі значним вмістом сквалену), водні та спиртові витяжки. Це мінімізує виробничі витрати та забезпечує повноту використання біологічного потенціалу рослини.

Виявлено та охарактеризовано нові джерела сквалену серед грибів флори України (зокрема *Laetiporus sulphureus*, *Pleurotus ostreatus*, *Fomitopsis betulina*), що дозволяє в перспективі створення національного виробництва сквалену, незалежного від імпорту та етичних аспектів сировини тваринного походження.

Розроблені методики виділення та очищення хітину зі шроту плодових тіл грибів дозволяють отримувати цінний біополімер як супутній продукт. Отримані дані щодо його молекулярної маси та спектральних характеристик підтверджують можливість його застосування у медицині як ентеросорбенту чи основи для ранових покриттів.

Результати дослідження, зокрема ідентифікація сквалену та супутніх біологічно активних речовин за допомогою ТШХ, ІЧ-спектроскопії та HPLC-MS, можуть бути використані при розробці методів контролю якості (МКЯ) та проектів технологічних регламентів на нові види лікарської рослинної сировини. Матеріали дисертації можуть бути інтегровані у лекційні курси та практичні заняття з фармакогнозії та промислової технології фармацевтичних виробництв.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Матеріали дисертаційної роботи повністю узгоджуються з визначеною метою та сформульованими завданнями дослідження. Робота характеризується чіткою та логічною структурою, що базується на всебічному аналізі сучасних літературних і патентних джерел.

Робота представляє дослідження від теоретичного обґрунтування та скринінгу природних джерел до розробки технологічних регламентів отримання субстанцій та методів штучного регулювання біосинтезу (інгібування скваленоксидази). Достовірність ідентифікації сполук підтверджена комплексом сучасних фізико-хімічних методів аналізу. Усі кількісні показники, наведені в роботі, є результатом багаторазових паралельних вимірювань (не менше 3-5 повторів). Опрацювання даних проведено з використанням методів варіаційної статистики з визначенням критеріїв значущості ($p < 0,05$), що гарантує об'єктивність висновків.

Застосування керованої акумуляції сквалену шляхом інгібування скваленоксидази тербінафіном гідрохлоридом обґрунтоване серією контрольованих експериментів. Отримані результати демонструють кратне збільшення виходу продукту (до 0,82 г на 100 г сировини), підтверджують ефективність обраного підходу.

Основні положення дисертації пройшли належну експертну оцінку шляхом публікації у фахових наукових виданнях, представлення на міжнародних конференціях та закріплення авторських прав у формі патентів України на корисні моделі.

Таким чином, представлені у роботі наукові положення, висновки та практичні рекомендації є обґрунтованими, експериментально підтвердженими та характеризуються належним рівнем достовірності.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях. Основні положення та результати дисертації повною мірою відображені в опублікованих працях автора. За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 12 наукових робіт, з них: 5 статей в наукових виданнях, проіндексованих у базах даних Scopus і Web of Science. Публікації охоплюють ключові аспекти роботи – пошук джерел і одержання сквалену з природньої сировини і відповідають вимогам щодо апробації результатів дисертаційних досліджень. Основні результати, висновки та прикладні рекомендації дисертації були презентовані на міжнародних і національних наукових подіях. Зокрема матеріали дисертації також пройшли апробацію на 5 науково-практичних конференціях різного рівня, що забезпечило їх фахове обговорення у професійному середовищі. Окрім того отримано 2 патенти на корисну модель. Таким чином, дисертаційна робота повною мірою відображена в опублікованих працях, а кількість і рівень публікацій відповідають чинним вимогам щодо апробації результатів дисертаційних досліджень.

Оцінка структури, змісту, оформлення та обсягу дисертації. Дисертація відповідає вимогам до оформлення дисертації, затвердженими наказом Міністерства освіти та науки № 40 від 12.01.2017 р. Дисертація має класичну структуру, викладена на 170 сторінках друкованого тексту, з яких 113 основного тексту. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів, п'ятих розділів власних досліджень, висновків, списку використаної літератури та додатків. Робота ілюстрована 32 таблицями та 31 рисунками. Список використаних джерел містить 155 найменувань.

У вступі до дисертації наведені дані, що обґрунтовують актуальність проблеми, згідно з якою чітко сформульована мета та конкретизовані завдання, рішення яких в повній мірі забезпечило її досягнення. Визначено об'єкт та предмет дослідження, представлено наукову

новизну та практичне значення роботи. Структура дисертаційної роботи логічна, вона дозволила розкрити тему в повному обсязі і співмірно з поставленим завданням.

Перший розділ (Огляд літератури) інформативний, добре структурований, відображає сучасні уявлення про фізико-хімічні властивості, природні джерела отримання, хімічний синтез та біосинтез сквалену а також аспекти використання сквалену в медицині. В цьому ж розділі автор окреслює і ті аспекти проблеми, які висвітлені в науковій літературі фрагментарно і потребують подальших досліджень.

Другий розділ «Матеріали та методи» присвячений загальній методології досліджень, характеристиці об'єктів та застосованих методів дослідження. Використані методи дослідження адекватні до мети і завдань, сформульованих дисертантом, дають можливість узагальнити отримані результати і сформулювати висновки та практичні рекомендації.

Результати власних досліджень викладені у п'ятьох розділах дисертації.

У третьому розділі представлено результати дослідження щодо одержання біологічно активних речовин з щиріці хвостатої (*Amaranthus caudatus* L.). Розроблено схему отримання жирної олії, сквалену, лектину та суми тритерпенових речовин з насіння *Amaranthus caudatus* L. з максимальним виходом біологічно-активних речовин в один технологічний цикл. Представлено розроблену методику отримання біологічно-активних речовин з надземної частини щиріці хвостатої (*Amaranthus caudatus* L.), яка залишається після одержання насіння.

Четвертий розділ дисертаційного дослідження присвячений ґрунтовному аналізу 21 виду грибів, що належать переважно до класу *Agaricomycetes* та одного виду класу *Pezizomycetes*. Такий широкий охоплення таксономічних груп дозволив дисертанту не лише знайти джерела сквалену, а й зробити висновки про поширеність цієї сполуки в різних екологічних групах грибів (трутовики, ґрунтові сапротрофи тощо). Встановлено, що із проаналізованих зразків найбільш перспективними видами є: *Mucidula mucida* (Schrad.) Pat., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, *Tyromyces chioneus* (Fr.) P. Karst. та *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.. Базуючись на комплексному аналізі автор розробив методики виділення і очищення сквалену з досліджуваних зразків грибів

У п'ятому розділі автор переходить від загального скринінгу до глибокого та детального фізико-хімічного аналізу трьох найбільш перспективних видів макроміцетів *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, *Tyromyces chioneus* (Fr.) P. Karst. та *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.. Представлено експериментальні результати динаміки біосинтезу сквалену. Використання методу газової хроматографії з мас-спектрометрією (ГХ-МС) для дослідження екстрактів *Laetiporus sulphureus* (підрозділ 5.1.4) дозволило автору не лише підтвердити наявність сквалену, а й ідентифікувати широкий спектр супутніх сполук. Експериментально встановлено залежність вмісту сквалену від віку плодового тіла та підтверджено, що найбільша концентрація сквалену характерна для ранніх стадій розвитку грибів а також, що культивовані форми містять суттєво менше сквалену, ніж дикорослі форми. Це дозволяє дисертанту чітко визначити оптимальні терміни збору сировини для отримання максимального виходу цільового продукту. Окрім сквалену, у розділі висвітлено дані про наявність інших біологічно активних сполук (вітамінів, амінокислот), що створює передумови для подальшої комплексної переробки мікосировини, описаної в наступних розділах роботи.

Шостий розділ представляє результати досліджень вмісту хітину в шроті з плодових тіл грибів, який залишається після попередніх екстракцій в рамках комплексного використання сировини. Розроблені методики виділення і очищення хітину з плодових тіл видів: *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Tyromyces chioneus* (Fr.) P. Karst., *Mucidula mucida*

(Schrad.) Pat., *Lycoperdon perlatum* Pers. та *Fomitopsis betulina* (Bull.) В.К. Cui. Проведено визначення молекулярної маси і ІЧ-спектроскопію отриманого хітину.

У цьому розділі представлено результати досліджень по збільшенню вмісту сквалену в плодових тілах *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. внаслідок інгібування скваленоксидази тербінафіном гідрохлоридом. Досліджено вміст біологічно-активних речовин в ліпофільних екстрактах. Встановлено, що таким способом можна отримати в рази більший вихід сквалену на 100 г. сухої сировини ніж з найбільш поширеного рослинного джерела сквалену роду щириці (*Amaranthus*).

Загальні висновки роботи сформульовано повно та лаконічно, їх зміст повністю відповідає темі дисертаційної роботи.

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача. У тексті дисертації матеріал викладено послідовно, зрозуміло та загалом оформлення рукопису роботи заслуговує на позитивну оцінку. Проте виникли такі зауваження:

1. За текстом трапляються деякі орфографічні, пунктуаційні та стилістичні неточності.

2. Зустрічаються поодинокі випадки невідповідності оформлення бібліографічних джерел у списку використаної літератури вимогам ДСТУ 8302:2015, зокрема в джерела 117, 120, 143, 174, 180-195.

3. У тексті дисертації зустрічається паралельне використання застарілих та сучасних мікологічних назв (наприклад, порядок *Aphyllphorales* та клас *Agaricomycetes*). Бажано було б дотримуватися єдиної сучасної номенклатури згідно з міжнародними базами даних (*Index Fungorum*).

4. Автором проаналізовано 21 вид грибів, у вступній частині варто було б чіткіше окреслити критерії, за якими обиралися саме ці види (екологічна доступність, біомаса чи попередні літературні дані про ліпідний склад) як об'єкти дослідження.

5. Сушіння сировини проводилось при 55–65°C. Варто було б надати коротке обґрунтування, чому не було обрано ліофільне сушіння, яке є більш щадним для лабільних біологічно активних речовин.

Оцінюючи загалом роботу позитивно, у плані наукової дискусії виникли запитання:

1. Ви пропонуєте використовувати тербінафіну гідрохлорид для стимуляції накопичення сквалену. Яким чином ви плануєте контролювати відсутність залишків цього препарату в кінцевій субстанції сквалену, якщо вона буде призначена для внутрішнього застосування?

2. Вміст сквалену в грибах (навіть після інгібування) є значно нижчим, ніж у печінці акули. За рахунок яких чинників (комплексність переробки, дешевизна субстрату тощо) виробництво мікогенного сквалену може стати конкурентоспроможним на ринку?

3. Сквален легко окислюється на повітрі. Які стабілізатори або умови зберігання ви рекомендуєте для отриманих вами ліпофільних екстрактів з метою запобігання їх псуванню?

4. Ви зазначаєте, що отриманий грибний хітозан містить домішки фенольних сполук. Які додаткові стадії очищення ви вважаєте найбільш перспективними для отримання фармацевтично чистого продукту?

5. Чи інгібує тербінафін інші ферменти в грибах, окрім скваленоксидази, і як це впливає на загальний біохімічний профіль плодового тіла?

6. Який із розроблених вами продуктів (екстракт амаранту, сквален з грибів чи грибний хітин) має найбільший потенціал для швидкого впровадження у вітчизняне фармацевтичне виробництво і чому?

Відповідність дисертаційної роботи принципам та нормам академічної доброчесності. В процесі ознайомлення з роботою не було виявлено нецитованих текстових запозичень, як не видозмінених так і модифікованих. В роботі відсутні ознаки фабрикації та фальсифікації даних. Враховуючи зазначене представлена робота повністю відповідає принципам та нормам академічної доброчесності.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. За результатами аналізу дисертаційної роботи Корабля Івана Михайловича на тему «Пошук сировинних джерел сквалену і їх комплексне дослідження», наукових публікацій, в яких висвітлені основні її положення, можна зробити висновок, що за обсягом проведених досліджень, актуальністю, науковою новизною, практичною значущістю, ступенем обґрунтованості наукових положень та висновків вона відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженим Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 та наказу МОН України від 12.01.2017 №40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» а її автор Корабель Іван Михайлович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» в галузі знань 22 «Охорона здоров'я»

Офіційний опонент:

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



Роксолана КОНЕЧНА

Підпис к.фарм.н. доц. Роксолани Конечної підтверджую

Вчений секретар
Національного університету
«Львівська політехніка»



Роман БРИЛИНСЬКИЙ