

## ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри фармакології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України Зайченко Ганни Володимирівни на дисертаційну роботу Верховодової Юлії Володимирівни за темою «Фармакологічна ефективність застосування комбінованих фітоекстрактів шавлії лікарської для профілактики та корекції дисбіотичних порушень», подану до спеціалізованої Вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

**Актуальність обраної теми.** Дисбіотичні порушення супроводжують захворювання кишечника різної етіології. Антибіотик-асоційована діарея (ААД), гостра чи хронічна діарея, коліти, ентероколіти, хвороба Крона характеризуються у тому числі розвитком дисбіотичних порушень мікрофлори кишечника.

У складі мікробіоти людини виявлено понад 1000 видів бактерій, а метагеном (сумарне число генів мікробіоти) в 100 разів більший за геном людини. Метаболічні можливості кишкової мікробіоти фактично дорівнюють можливостям печінки, тому сукупний мікробіом можна розглядати як додатковий орган (Широбоков В.П. та співавт., 2014). Порушення мікробіому, зокрема, кишкового, ведуть до розвитку функціональних захворювань ШКТ, погіршення перебігу хронічних захворювань різних органів і систем, що віддзеркалюються на якості життя людини. пошкоджена мікробіота є важливим чинником у розвитку метаболічного синдрому, жирової дистрофії печінки, інсулінорезистентності, гіперхолестеринемії, автоімунних хвороб, у тому числі ревматоїдного артриту, порушення функцій ШКТ і запальних захворювань кишечника, алергії, розвитку окремих типів раку і багатьох інших гострих і хронічних патологічних процесів. Доведено чіткий зв'язок

між розладами психічного здоров'я і порушеннями мікробної екології людини (Bested A. C., 2013).

Для корекції та профілактики дисбіозів використовують комплексну терапію, що включає дієту, фармакотерапевтичні засоби (антимікробні засоби), пробіотики, лантибіотики, симбіотики, але не у всіх випадках вдається в повній мірі відновити мікробіоценоз, ліквідувати наслідки супутніх ускладнень. Загострення цієї проблеми пов'язано з різким збільшенням (у 40 разів) та безконтрольним споживанням антибіотиків та синтетичних антибактеріальних засобів, внаслідок лікування COVID-19, що за словами Головного санітарного лікаря МОЗ України має загрозливі масштаби. Отже, пошук нових лікарських засобів для фармакологічної корекції дисбіотичних порушень, впровадження нових фармакотерапевтичних підходів, що включають використання препаратів рослинного походження є актуальним та своєчасним завданням сучасної фармакології, медицини та фармацевтики.

Перспективним шляхом вирішення проблеми, який був обраний дисертантом, є застосування фітоекстрактів на основі *S. officinalis*. Відомі чисельні фармакологічні властивості даної рослини, але вперше запропоновано дослідити оригінальні модифіковані (в тому числі амінокислотами) фітоекстракти з листя *S. officinalis* та провести комплексне фармакологічне дослідження і обґрунтувати розробку на їх основі нового класу фітозасобів для лікування кишкового дисбіозу, антибіотик-асоційованої діареї та ін. запальних захворювань кишечника, що супроводжуються змінами кишкової мікробіоти.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.**

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956,

2014-2023 рр.), в яких дисертант є співвиконавцем. Дослідження відповідають пріоритетними напрямками розвитку науки й техніки, визначеними Верховною Радою України «Цільові прикладні дослідження з питань гармонізації системи “людина — світ” та створення новітніх технологій покращення якості життя».

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна, повнота викладення в наукових працях.**

Основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації, які впливають із результатів власних досліджень, обґрунтовані об’ємом виконаних досліджень, адекватними методами дослідження, ретельністю їх виконання, методично вірним вирішенням проблеми. Сформульовані Верховодовою Ю.В. наукові положення та висновки ґрунтуються на достатньому експериментальному матеріалі (362 нелінійних білих щурів, 216 білих мишей). Представлена робота характеризується достатнім методичним рівнем із використанням сучасних, адекватних та коректних методичних підходів до реалізації програми дослідження. Залучені інформативні фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, мікробіологічні, морфологічні та статистичні методи дослідження адекватні поставленим задачам, вирішення яких дозволяє досягти мети даного дисертаційного дослідження. Усі методичні прийоми описано в роботі детально. Результати роботи задокументовані, цифрові дані статистично оброблені, оформлені у вигляді таблиць, рисунків. Зроблені автором висновки інформативні, змістовні, достатньо обґрунтовані, логічно впливають із одержаного фактичного матеріалу та свідчать про досягнення мети і завдань роботи.

**Наукова новизна дослідження.**

Представлена робота характеризується безперечно науковою новизною, адже автором вперше проведено вивчення параметрів безпеки нових фітоекстрактів та їх комбінацій з амінокислотами (досліджено гостру

токсичність), вперше проведено скринінг антимікробної активності екстрактів *S. officinalis* та визначено екстракти-лідери (№2 та №4). Вперше вивчено фармакодинаміку фітоекстрактів *S. Officinalis*. Встановлено протизапальну активність екстрактів *S. officinalis* на моделях карагенінового та зимозанового набряків, що дозволило прогнозувати ймовірний механізм дії. Отримані нові наукові дані про фармакологічні властивості фітоекстрактів *S. Officinalis*, зокрема, на моделі інфекційного коліту у щурів, доведено антагоністичну активність екстракта №2 та №4 по відношенню до *E. coli*, *C. albicans*, *S. aureus*, *C. perfringens*. На відміну від антибіотику рифаксиміну екстракти не пригнічували життєдіяльність представників індигенної мікрофлори. Встановлена наявність пребіотичної дії по відношенню до *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium* у екстракту №4. екстракт №4, він перевищував препарат порівняння рифаксимін за позитивним впливом на гематологічні показники периферійної крові. Вперше отримані наукові дані, що при застосуванні екстракти №2 та №4 у дозі 50 мг/кг виявляють антиоксидантні та протизапальні властивості. Поглиблено існуючі уявлення про спектр фармакологічної активності фітоекстрактів на запропонованій автором новій моделі експериментального коліту (захищено патентом України на винахід), це є суттєвим внеском у розвиток фундаментальної науки, зокрема експериментальну фармакологію.

#### **Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.**

Дисертаційна робота має як теоретичне, так і практичне значення, адже її результати доповнюють наші знання щодо фармакологічного потенціалу екстрактів *S. officinalis*. Визначено сполуку-лідер екстракт №4 (комплекс фенольних сполук *S. officinalis* з додаванням L-лізину) та його умовно терапевтичну дозу 50 мг/кг, обґрунтовано доцільність його доклінічних та клінічних досліджень.

Запропоновано інноваційний спосіб моделювання коліту з

дисбіотичними порушеннями (патент України на корисну модель № 140188, 2020 р.; патент України на винахід №122640, 2020 р.), новий спосіб одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю (патент України на корисну модель № 138320, 2019 р.) та спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю (патент України на винахід №121367, 2020 р.). Отримано довідку від фармацевтичної компанії Vrupharmexport sprl. (Брюссель) від 10.11.2019 р. про впровадження результатів доклінічних фармакологічних досліджень сухого екстракту *S. officinalis* у матеріали реєстраційного досьє «Модуль 4». Результати роботи імплементовано в науково-педагогічний процес кафедр фармакології закладів вищої освіти України фармацевтичного та медичного профілю, про що є відповідні акти впровадження.

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

Результати роботи Верховодової Ю.В. є цілком переконливими, їх достовірність не викликає сумніву. Отримані результати, розроблені на їх основі наукові положення і висновки є обґрунтованими, базуються на адекватних методологічних підходах при вирішенні визначених завдань, на достатній кількості експериментального матеріалу, а також на результатах статистичної обробки даних.

Основу роботи складають результати експериментальних досліджень, проведених на адекватних моделях, в ході яких використовували високоінформативні методи дослідження.

Автор проаналізував отримані результати експериментів, співставив їх з даними літератури, провів статистичну обробку матеріалу. Все це дозволило належним чином обґрунтувати наукові положення, висновки, які сформульовані в дисертації.

**Основний зміст дисертації та його структура.**

Дисертація Верховодової Ю.В. написана логічно, послідовно та складається з анотацій українською та англійською мовами, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, результатів власних досліджень, викладених у 3-ох розділах, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних літературних джерел, додатків. Обсяг основного тексту викладено на 149 сторінках друкованого тексту. Дисертація ілюстрована 14 таблицями та 10 рисунками, містить 8 додатків. Перелік використаних джерел складає 165 найменувань, з них 49 кирилицею, 116 – латиницею. Отже, структура та обсяг роботи відповідають вимогам МОН України.

Анотація до дисертаційної роботи оформлена згідно з вимогами наказу №40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації»

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми, сформульовані мета і завдання дослідження, сформульовано зв'язок роботи з науковою тематикою Національного фармацевтичного університету, охарактеризовані новизна і практична значимість одержаних результатів, зазначено особистий внесок здобувача виконаної дисертаційної роботи, дані щодо публікацій та апробації результатів дослідження.

В **огляді літератури** автор аналізує наукові дані щодо проблеми дисбіотичних порушень, антибіотик-асоційованої діареї, проблем фармакологічної корекції цих станів, обґрунтування пошуку фітотерапевтичного засобу для профілактики та корекції вищезгаданих станів.

Розділ I досить компактний, представлений на 11 сторінках, містить 6 підрозділів, чотири з яких обсягом до 1,5 сторінок, було б доцільним поєднати їх. У даному розділі відсутні сучасні дані щодо ролі мікробіому людини у фізіологічних та патофізіологічних процесах, відсутні дані щодо резистому, механізму формування антибіотикорезистентності та шляхів її подолання з визначенням місця сполук рослинного походження, зокрема

тих, що містяться у шавлії. Підрозділ 1.5. «Фітотерапія в сучасній медицині» написаний примітивно, не містить аналітичних даних щодо ролі сучасних фітопрепаратів у розв'язанні проблем лікування антибіотик-асоційованої діареї, не розкриває їх можливостей у вирішенні проблеми антибіотикорезистентності. Не зрозумілою залишилася узагальнююча фраза висновків до Розділу I «Сполуки, виділені з *S. officinalis* у перспективі є сучасною безпечною альтернативою антибіотикам, засобам що застосовуються для профілактики та лікування терапевтичних, гастроентерологічних, гінекологічних, онкологічних захворювань».

У **розділі 2** «Матеріали та методи дослідження» наведено описання фітоекстрактів та їх комбінацій з амінокислотами, препаратів порівняння. Як зауваження, слід зазначити, що препарати порівняння охарактеризовані не повно, не вказані їх виробники, серії що підлягали дослідження, а деякі препарати, такі як рифаксимін, "*Bifidobacterium dry*", "Лацидофіл", листя шавлії (рослинна сировина), кверцитин взагалі не описані, не наведені аргументи щодо їх вибору як препаратів порівняння.

Описання мікробіологічних методів дослідження написано дуже розгорнуто, бажано було б його скоротити, навести лише суть та посилання на методичні рекомендації.

На с. 58 у описанні методу морфологічного дослідження товстого кишечника зазначено, що експеримент проводився з тваринами, які склали 6 експериментальних груп, а у Розділі

Зазначено, що експериментальна частина роботи виконана на 578 тваринах: 362 нелінійних білих щурах, 216 білих мишах, отриманих з розплідника віварію ЦНДЛ НФаУ. Алгоритм дослідження наведений у вигляді схеми. Дисертантом було застосовано достатній набір адекватних методів, що дали можливість розв'язати поставлені завдання.

У **3 розділі** «Дослідження фармакологічного профілю дії екстрактів *S. officinalis*» наведено результати вивчення гострої токсичності

фітоекстрактів. Висновки до підрозділу 3.1 не відповідають дійсності, дисертант стверджує, що всі екстракти відносяться до V класу токсичності, хоча загибель тварин у дозі 6000 мг/кг була відмічена у всіх групах, а у групах 6, 7, 10 загибель щурів була відмічена вже у дозі 4000 мг/кг.

Зважаючи на те, що у даному розділі наводяться результати токсикологічних досліджень, необхідно це відобразити у назві розділу.

Підрозділ 3.2 присвячений вивченню антимікробної активності *S. officinalis*, визначенню екстрактів-лідерів, скринінговому дослідженню діуретичної, а точніше антидіуретичної активності та визначенню умовно-терапевтичної дози за цим видом активності. Встановлено, що досліджувані фітокомплекси мали антидіуретичні властивості на рівні препарату порівняння адіурекрину. При дослідженні протизапальної активності доведено, що екстракти-лідери впливають на циклооксигеназну і ліпооксигеназну ланки запалення та мають протизапальну активність на рівні диклофенаку та кверцитину.

В підрозділах 3.3 та 3.4. наведено результати, що свідчать про наявність у екстракту №2 мембраностабілізуючої активності на рівні вітаміну E, встановлено, що екстракт №4 перевищував за даним видом активності дію екстракту №2 та препарату порівняння. Доведено, що екстракти №2 і №4 виявляли капіляррозміцнювальний ефект, за яким екстракт №4 перевищував дію екстракту №2.

У **розділі 4** «Мікробіологічне дослідження ефекта екстрактів *S. officinalis* на кишкову мікробіоту при дисбіозі у щурів» автором наведено наукові дані про дослідження антагоністичної активності фітокомплексів *S. officinalis* по відношенню до представників патогенної та умовно патогенної мікрофлори *in vivo* на моделі інфекційного коліту у лабораторних щурів.

Встановлено, що після 5 денного інтрагастрального введення фітокомплексів №2 та №4 у порівнянні з рифаксиміном обидва екстракта



мали антагоністичний ефект по відношенню до представників патогенної та умовно патогенної мікрофлори. Фітоекстракт №2 збільшував загальну кількість *E. coli*, фітоекстракт №4 нормалізував загальну кількість *E. coli*. Екстракти №2 та №4 однаково знижували кількість *C. albicans* та дещо знижували кількість клостридій. Екстракт №4 ефективніше збільшував кількість біфідо і лактобактерій аніж екстракт №2. Екстракт №4 мав більш виражену пребіотичну активність аніж екстракт №2. Препарат порівняння рифаксимін значно зменшував кількість *S. aureus* та ліквідував *C. perfringens*, *C. albicans* лишилась на підвищеному рівні, а представники нормофлори лакто і біфідобактерії на зниженому рівні. Встановлено, що екстракти №2 та №4 мали пребіотичну активність. Отримано наукові дані, що нормалізація гематологічних показників, біохімічних показників при інфекційному коліті відбувалася більш виражено при застосуванні екстрактів №2 і №4, ніж при уведенні препарату порівняння – рифаксими́ну.

У **розділі 5** «Морфологічне дослідження стінки тонкого та товстого кишечника при інтрагастральному застосуванні екстрактів шавлії лікарської для корекції експериментального інфекційного коліту у щурів» автором доведено, що інтрагастральне застосування фітоекстрактів №2 та у більшій ступені №4 призводило до зменшення дистрофічних, запальних, десквамативних, ерозивно-виразкових процесів.

Окремо подається аналіз та узагальнення результатів, інтерпретація та науково обґрунтоване обговорення фактів і виявлених закономірностей. Ознайомлення з наведеними у розділі науковими відомостями, дозволяє скласти уявлення про науково-практичну сутність дисертаційної роботи. Автор вміло узагальнює результати власних досліджень із залученням літературних даних. Проводить аналіз отриманих результатів у порівнянні з референтними препаратами.

Загальні висновки відповідають меті та поставленим задачам дослідження, тобто дисертаційна робота носить завершений характер.

Список літературних джерел оформлений згідно з вимогами і відображає широке опрацювання дисертантом даних літератури.

**Повнота викладу наукових положень дисертації в опублікованих працях.**

За матеріалами дисертаційної праці опубліковано 24 наукові роботи, з них 7 статей у профільних наукових журналах, рекомендованих МОН України, 1 стаття у виданні, що індексується у міжнародній наукометричній базі Scopus, Web of Science, 2 патента України на корисну модель, 2 патента України на винахід, 12 тез доповідей.

**Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації.**

Дисертаційна робота та автореферат написані з дотриманням наукового стилю (за виключенням невеликих фрагментів огляду літератури та узагальнення). Оформлення автореферату та дисертації відповідає вимогам наказу МОН України N40 від 12.01.2017 р. Автореферат відповідає тексту дисертації.

**Зауваження, що стосуються оформлення і змісту дисертації та автореферату.**

1. У Вступі відсутні дані щодо структури та обсягу дисертації. Список скорочень не повний, наприклад, у тексті зустрічаються АЕА, СОТК, що не розкриті у списку.
2. У тексті дисертації наведено 9 завдань дослідження, а у авторефераті – 8, вони відрізняються за стилістикою, хоча основний зміст при цьому співпадає.
3. В схемі, що наведено на с. 47 зазначено «вибір сполук лідерів з 11 сухих екстрактів», краще «вибір тест-зразків лідерів з 11 сухих екстрактів», адже екстракт – це комплекс сполук, отриманих з рослинної сировини.

4. У тексті зустрічаються різні написання одного самого шляху введення різними словами «інтрагастрально», «per os», бажано використовувати однаковий термін – «внутрішньошлунково». Досліджувані екстракти називаються «фітоекстракти», «модифіковані екстракти», «фітосубстанція», «фітокомплекси».
5. У тексті зустрічаються орфографічні помилки та невдалі вирази (наприклад, «Тварин виводили з експерименту на 15 добу від початку експерименту шляхом дачі загального наркозу відповідно до міжнародних вимог до проведення експериментів на тваринах»; «зміни лейкоцитарної формули мали достовірно до контрольної патології позитивний характер»; «препарат референт ліктрави – листя *S. officinalis*.»).
6. У підрозділі 5.1. описання морфології кишечника наведено у теперішньому часі, хоча, мали б бути у минулому, бо описуються явища, що були отримані раніше.
7. У дисертації зустрічаються протиріччя, наприклад, на с. 48 наведено наступне твердження «Оскільки листя шавлії лікарської широко застосовується в медицині **та є нетоксичною сировиною**, вивчили гостру токсичність у дозах III, IV, V класів токсичності», а на с. 59 вже таке «З літературних джерел відомо, що ефірні олії, **фенольні сполуки *S. officinalis* можуть мати токсичні властивості**».
8. У Примітках до таблиці 4.2.1, 4.2.2, 4.3.1 наведено «\*\*\* – відхилення достовірне щодо референс-препарату,  $p \leq 0,05$ », хоча таких позначок у таблицях не має.
9. Замість «Список використаних джерел», наведено «Список літературних джерел».

Проте, вказані зауваження та пропозиції не мають принципового характеру, не зменшують науково-практичного значення роботи та не

впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи Верховодової Ю.В.

Крім того, хотілось би почути відповіді дисертанта на запитання, що виникли у процесі рецензування:

1. З якою метою проводилося дослідження впливу екстрактів *S. officinalis* на сечовидільну функцію нирок?
2. Чому дисертація присвячена вивченню фармакологічних властивостей фітоекстрактів з метою профілактики та корекції дисбіотичних порушень, а моделі на яких були проведені дослідження по суті є експериментальним відтворенням інфекційного коліту?
3. Які конкурентні переваги може виявити потенційні лікарські засоби або ДД, розроблені на основі фітоекстрактів №2 та №4?

**Відповідність дисертації обраній спеціальності, профілю спеціалізованої вченої ради та вимогам МОН України.**

Дисертаційна робота Верховодової Юлії Володимирівни за темою «Фармакологічна ефективність застосування комбінованих фітоекстрактів шавлії лікарської для профілактики та корекції дисбіотичних порушень» є завершеною науковою працею, яка присвячена вирішенню актуального наукового завдання, що полягає у теоретичному та експериментальному обґрунтуванні розробки і фармакологічного вивчення нових фітоекстрактів з *S. officinalis* та їх комбінацій з амінокислотами, в якій отримані нові науково обґрунтовані результати, що в сукупності вирішують конкретну наукову задачу. У ході виконання дисертаційної роботи отримані нові науково обґрунтовані експериментальні результати, що в сукупності є суттєвими для розвитку фармакологічної науки.

За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, методичним рівнем, обсягом проведених досліджень, дисертаційна робота Верховодової Ю.В. «Фармакологічна ефективність застосування комбінованих фітоекстрактів шавлії лікарської для профілактики та корекції дисбіотичних порушень» відповідає п.10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою КМУ України №567 від 24.07.2013 р. (зі змінами), а її автор – заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

**Офіційний опонент:**

завідувач кафедри фармакології  
Національного медичного університету  
імені О.О. Богомольця МОЗ України  
д. м. н., професор

Зайченко Г.В.

