

ВІДЗИВ

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Рожковського Я.В. на дисертаційну роботу Цеменко К.В. « Експериментальне вивчення фармакологічних активностей екстрактів з листя брусници звичайної (*Vacciniumvitis-idaea*), подану до спеціалізованої вченої ради Д для захисту на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Незважаючи на те, що сучасні можливості фармакотерапії інфекцій сечовивідних шляхів значно збільшились, актуальним залишається пошук та створення ефективних і безпечних препаратів з уроантисептичними властивостями та широким спектром загально метаболічного впливу на організм. У цьому плані перспективною лікарською рослиною з багатовіковим досвідом застосування в народній і традиційній медицині є брусниця звичайна. Вона широко розповсюджена на території України і має достатню сировинну базу. Завдяки вмісту великої кількості флавоноїдів, простих фенолів, поліфенольних сполук, гідроксикоричних та органічних кислот, аскорбінової кислоти, полісахаридів та інших БАР, лікарська рослинна сировина брусниці звичайної може спричиняти широкий спектр фармакологічного впливу на організм і володіти антибактеріальними, діуретичними, протизапальними, імуномодлюючими властивостями тощо. На кафедрі фармакогнозії НФАУ під керівництвом професора Кошового О.М. з листя брусници звичайної було отримано та стандартизовано 13 фітосубстанцій, три з яких – галенові сухі екстракти, які одержані з використанням розчинників різної полярності, та їхній основі створено ще 10 модифікованих новогаленових субстанцій, які відрізняються за хімічним складом діючих речовин.

Отже метою досліджень дисертаційної роботи Цеменко К.В. стало вивчення фармакологічних властивостей отриманих фітосубстанцій, виявлення субстанції-лідера та експериментальне обґрунтування можливостей її застосування в фармакотерапії інфекційно-запальних захворювань сечовивідних шляхів в експерименті.

Актуальність дисертаційної роботи підкреслюється й тим, що вона є фрагментом планової науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956). Дисертант є співвиконавцем зазначеної теми.

Дисертаційна робота побудована за класичним принципом, вона складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків та списку використаних джерел.

Огляд літератури присвячений аналізу сучасних аспектів етіології, патогенезу, профілактики та лікування інфекцій сечовивідних шляхів.

У цьому розділі автор констатує, що інфекції сечовивідних шляхів – це поліетіологічне, часто рецидивуюче захворювання, яке викликається здебільшого грам-негативною флорою, перебіг якого може носити характер хронічного. Враховуючи складність та багатовекторність функціональних та метаболічних зрушень при різних формах локалізації запального процесу в органах сечовидільної системи, автор аналізує можливості як сучасної традиційної антибактеріальної терапії, так і застосування з метою їх корекції деяких лікарських рослин та фітозасобів, які присутні на фармацевтичному ринку України. Дисертант особливу увагу зосередив на аналізі літературних даних щодо застосування сировини брусниці звичайної та провів аналіз фармацевтичного ринку рослинних лікарських препаратів, до складу яких входить ця рослина, зосередивши увагу на можливостях створення сучасних комбінацій цих засобів з амінокислотами. У цьому ж розділі автором також розглянуті деякі проблемні аспекти сучасної фармакотерапії цього захворювання і запропоновано з метою можливого підвищення ефективності і безпечності зазначеної терапії та у якості противрецидивних заходів дослідити ймовірність застосування нових фітозасобів на основі ЛРС брусниці звичайної, створених на кафедрі фармакогнозії НФАУ під керівництвом проф. Кошового О.М. Встановлення особливостей

фармакодинаміки цих фітокомпозицій та обґрунтування доцільності їх застосування при інфекційно-запальних процесах сечовидільної системи й стало предметом дослідження пошукувача.

В розділі «Матеріали і методи дослідження» наведений об'єм експериментальних досліджень, виконаних на 588 білих нелінійних щурах, 48 мишиах обох статей та 40 хом'ячках. Дослід проводили відповідно до положень Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншими науковими цілями (Страсбург, 1986) та вимогами комісії з біоетики НФАУ (протокол № 2 від 04.11.2019 р.).

В скринінгових дослідженнях використані 13 фітосубстанцій, отриманих на кафедрі фармакогнозії НФАУ. У цілому, автором обрані адекватні поставленим задачам фармакологічні, патофізіологічні та статистичні методи дослідження, які дозволили у повній мірі досягти поставленої мети дисертаційної роботи.

Третій розділ дисертації присвячений скринінговим дослідженням нових модифікованих галенових та новогаленових фітосубстанцій, виявленню субстанції-лідера та визначенню її умовно-терапевтичної дози.

У цьому розділі дисертант дослідила антимікробну активність 13 нових модифікованих галенових і новогаленових фітосубстанцій класичним методом дифузії фітосубстанції в агар і встановила, що фітосубстанція №12 виявила найвищу, порівняно з іншими, антибактеріальну активність по відношенню до основних уropатогенів (зони затримки росту склали від 16 до 18 мм, Р<0,05).

Вивчення порівняльної діуретичної активності досліджуваних фітосубстанцій також виявило наявність у них діуретичної дії в інтервалах доз 25-100 мг/кг на рівні 45-207%, окрім субстанції 4 (полісахаридний комплекс), яка виявила антидіуретичний ефект. При цьому встановлено, що фітосубстанція №12 в дозі 100 мг/кг здатна збільшувати діурез практично втричі, що й визначило сполучу-лідера, яка містить комплекс фенольних глікозидів з листя брусници звичайної в комбінації з амінокислотою аргінін

під умовною назвою «КГФА». Умовно-терапевтичну дозу КГФА 100 мг/кг й використовували в подальших дослідженнях.

Також у цьому ж розділі дисертант наводить результати впливу фіtosубстанції-лідера на видільну функцію нирок за його одноразового та тривалого уведення в умовах водного навантаження, порівнюючи його з аналогічними ефектами гідрохлортіазиду. Показана перевага натрійуретичної дії КГФА над калійуретичною та зростання внаслідок цього відповідного натрій-калієвого коефіцієнта у 1,67 рази ($P<0,05$). Автором встановлений ймовірний механізм підвищення екскреції ендогенного креатиніну за рахунок посилення фітозасобом ниркового кровообігу.

В розділі 4 дисертант дослідил параметри гострої та хронічної токсичності фіtosубстанції-лідера шляхом визначення летальності тварин після його одноразового в дозі 20000 мг/кг та багаторазового в дозі 100 мг/кг внутрішньошлункового уведення, не виявила у тварин ознак інтоксикації та випадків летальності, показала, що фітозасіб при тривалому протягом 3 місяців уведенні не спрямлює токсичного впливу на трофічні процеси, структуру і функцію печінки і нирок, і встановила, що КГФА можна віднести до VI класу токсичності за класифікацією К.К.Сидорова.

В розділі 5 дисертант досліджує спектр фармакологічної активності субстанції-лідера. Зокрема на моделі карагенінового набряку у щурів пошукувач виявила наявність вираженої антиексудативної дії, яка пов'язана з гальмівним впливом фіто композиції передусім на медіатори ранньої фази запалення, у той час, як на третю годину ексудативного набряку гальмівний вплив КГФА виявився недостатньо активним, що може свідчити про його менш виразний вплив на активність простагландинів, що вигідно відрізняє фітозасіб від діклофенаку, який, як відомо, за рахунок пригнічення синтезу простагландинів здатний погіршувати процеси фільтрації. У цьому ж розділі автор на моделі зимозанового набряку у щурів виявила й досить виразні антиліпоксигеназні властивості фітозасобу, які підтверджуються найвищою здатністю КГФА зменшувати на 72% зимозановий набряк саме протягом

першої години експерименту, коли значення ліпоксигенази в розвитку набряку є найбільшим.

Аналгетична активність субстанції-лідера була досліджена автором на моделях «гарячої пластини» і «оцтово-кислих» корчів. Переконливо підтверджена наявність у КГФА аналгетичної дії, яка за виразністю перевершує ефект анальгіну на моделі «гарячої пластини» і поступається перед препаратами порівняння анальгіном і вольтареном на моделі «оцтово-кислих корчів». Проте комплексний аналіз аналгетичної дії фітозасобу дозволив дисертанту зробити висновок, що вона реалізується як за рахунок центральних, так і периферичних механізмів.

Окрім цього при вивченні у цьому ж розділі впливу КГФА на поведінку та емоційні реакції тварин в тестах «відкрите поле» та «піднесено хрестоподібного лабіринту» автору вдалось встановити слабку анксиолітичну дію фітозасобу та відсутність негативного впливу на дослідницьку поведінку тварин.

Цілком логічними, з огляду на відомі гіперглікемічні властивості класичних діуретичних засобів-салуретиків були досліди щодо впливу сполуки-лідера на показники вуглеводного обміну у тварин в пероральному глюкозо-толерантному тесті (підрозділ 5.6.). Дисертант встановила, що КГФА в дозі 100 мг/кг за курсового уведення може виявляти антигіперглікемічні властивості і коригувати проявлення інсульнорезистентності толерантності клітин до глюкози, хоча і поступається за цими властивостями перед препаратом порівняння амарилом.

Логічним завершенням експериментальних досліджень був Розділ 6, у якому дисертант дослідила ефективність субстанції-лідера на експериментальній моделі запалення сечовивідних шляхів, яка відтворювалась на тваринах гострим холодовим стресом. Автор, на мою думку, обрава найбільш коректну модель експерименту, оскільки саме

холодовий стрес чи переохолодження є найбільш пошиrenoю причиною виникнення запальних процесів сечовидільної системи в клінічній практиці.

У цьому розділі дисертант, досліджуючи показники та термін зникнення бактеріальної контамінації сечі у тварин після інфікування культурою *E.coli*, а також, досліджуючи динаміку лейкоцитурії виявила переваги уросептичної дії КГФА перед рослинним уросептиком Інуреком. Зокрема під впливом дослідженого фітозасобу на 2 доби раніше зникала бактеріурія і на три дні – лейкоцитурія, що свідчить про значні уроантисептичні властивості фітозасобу на основі сировини листя брусници.

У розділі, який присвячено обговоренню результатів досліджень, автором професійно та грамотно виконаний аналіз результатів роботи, що дозволило зробити науково обґрунтовані висновки.

На основі чітко сформульованих завдань, сучасних методів дослідження дисертанту вдалось досягти мети, яка була поставлена в роботі. Проведені дослідження базуються на достатній кількості експериментального матеріалу, який статистично оброблений, достовірний і не викликає сумнівів.

Узагальнені висновки і результати дослідження коректно сформульовані.

Наукова новизна роботи полягає у тому, що автором вперше досліджені фармакологічні властивості 13 нових модифікованих фітосубстанцій з ЛРС брусниці звичайної, виявлено фітозасіб-лідер, який містить комплекс глікозидів фенольних сполук в комбінації з амінокислотою аргініном, досліджено спектр його фармакологічної активності та обґрунтована доцільність створення на його основі нового оригінального уроантисептика, який за своєю ефективністю і безпечністю не поступається, а за деякими критеріями і переважає класичні препарати порівняння з уроантисептичною і діуретичною дією.

Практична цінність роботи полягає у тому, що в дисертації обґрунтована доцільність створення на основі запропонованої

фітосубстанції КГФА нового ефективного і безпечного уроантисептика для профілактики і лікування рецидивів інфекцій сечовивідних шляхів. За результатами дисертаційних досліджень автором отримано 2 патенти України на корисну модель: «Спосіб одержання лікарського засобу з діуретично дією з листя брусници звичайної» (№133723 від.01.10.2018 р.). та «Спосіб моделювання пієлонефриту» (№142909 від.10.07.2020 р.). Видано 1 інформаційний лист «Винахід новогаленової фітосубстанції – комплексу глікозидів фенольних сполук з листя брусници звичайної в комбінації з аргініном з діуретичною та антибактеріальною активностями».

Результати дисертаційної роботи були впроваджені в науковий та навчальний процес низки профільних кафедр вищих медичних і фармацевтичних навчальних закладів України.

За темою дисертації опубліковано 19 наукових праць, з них 4 статті у вітчизняних фахових журналах, 1 – у закордонному виданні, 11 тез доповідей, 2 патенти України на корисну модель, 1 інформаційний лист.

Автореферат цілком відображає зміст дисертаційної роботи.

Принципових зауважень дисертаційна робота не викликає, однак існують деякі недоліки:

1. Деякі підрозділи дисертації, зокрема «Наукова новизна отриманих результатів», «Висновки» вкрай переобтяжені цифровим матеріалом, що дещо ускладнює їх узагальнююче сприйняття.

2. Не дуже зрозумілим є використання автором у якості препаратів порівняння на моделі вивчення протизапальної активності препарату «Диклофенак» («Дарниця», Україна), а на моделі вивчення аналгетичної активності препарату «Вольтарен» («Novartis», Швейцарія), адже діюча речовина у різних фармацевтичних виробників є однаковою.

3. За своїм об'ємом окремі таблиці є занадто великі. Наприклад таблиця 3.2. займає три сторінки.

4. В дисертації є окремі орфографічні та стилістичні помилки, русизми та невдалі вислови. Наприклад при описанні складу лікарських засобів

(табл..1.2.) не «толокнянка», а мучниця звичайна; на стор.63. – не «екстракт пустирника густого», а екстракт кропиви собачої густий. Зустрічаються невдалі вислови: «*Відомий є той факт, що в обміні води приймають участь нирки*» (стор.87).

Окрім того, при рецензуванні роботи до дисертанта виникли наступні запитання:

1. В Розділі 3 дисертаційної роботи автор підкреслює, що «калійурез в групі тварин, яка отримувала КГФА зростав в 2,6 разів, а у тварин, що отримували гідрохлортіазид, калійурез збільшувався у 2,3 рази». Чи означає це, що КГФА за калійуретичною дією переважає гідрохлортіазид і таким чином побічна гіпокаліємічна дія цього фітозасобу може бути більш виразною, ніж у гідрохлортіазиду?

2. Яким чином фітозасіб КГФА в дозі 100 мг/кг може збільшувати діурез більш ніж утричі, переважаючи референс-препарат гідрохлортіазид, якщо він, переважно впливає на процеси клубочкової фільтрації. Адже відомо, що тільки вплив на реабсорбцію може забезпечити таке значне зростання діурезу. Чи можливий вплив діючих речовин ГЕЯС на процеси реабсорбції?

3. Які діючі біологічно активні речовини ЛРС брусниці звичайної визначають встановлені фармакологічні властивості фітозасобу?

Тим не менш, зазначені в роботі недоліки і зауваження не впливають на її загальну позитивну оцінку.

Висновок

На підставі вищевикладеного можна дійти висновку, що дисертаційна робота Цеменко Карини Володимирівни «Експериментальне вивчення фармакологічних активностей екстрактів з листя брусниці звичайної (*Vacciniumvitis-idaea*) є завершеним науковим дослідженням, яке на високому методичному рівні вирішує важливу наукову і прикладну задачу підвищення ефективності профілактики і фармакотерапії інфекційно-запальних захворювань сечовивідної системи шляхом розробки та обґрунтування

застосування нового модифікованого фітозасобу з ЛРС брусниці звичайної з антибактеріальною, протизапальною і діуретичною активністю.

За актуальністю теми, новизною отриманих результатів, їх теоретичною та практичною значимістю, а також за обсягом досліджень представлена робота відповідає вимогам МОН України, а дисертант заслуговує на присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю - 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри фармакології та фармакогнозії

Одесського національного медичного університету,

доктор медичних наук, професор

